Postverlagsort Berlin

PLANTA

ARCHIV FÜR WISSENSCHAFTLICHE BOTANIK

UNTER MITWIRKUNG VON

J. BONNER-PASADENA, **A. ERNST**-ZÜRICH, **H. v. GUTTENBERG**-ROSTOCK
R. HARDER-GÖTTINGEN, **O. RENNER**-MÜNCHEN, **W. SCHUMACHER**-BONN

HERAUSGEGEBEN VON

W. RUHLAND UNTERDEUFSTETTEN **L. BRAUNER** MÜNCHEN **E. BÜNNING** TÜBINGEN

49. BAND, 5. HEFT

MIT 20 TEXTABBILDUNGEN

(ABGESCHLOSSEN AM 10. AUGUST 1957)

SPRINGER-VERLAG
BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG
1957

Planta (Berl.)

Preis DM 19.80

Planta. Archiv für wissenschaftliche Botanik

Begründet 1925. Band 1—34 (1945) herausgegeben von *W. Ruhland* und *H. Winkler*. (Band 1—21, 1934, als „Zeitschrift für wissenschaftliche Biologie", Abteilung E). Band 35—47. Herausgegeben von *W. Ruhland* und *O. Renner*.

Die Zeitschrift **„Planta"**, Archiv für wissenschaftliche Botanik, steht in deutscher Sprache oder einer der Kongreßsprachen, sofern sie die Muttersprache des Autors ist, abgefaßten Originalarbeiten aus dem Gesamtgebiet der Botanik, abgesehen von solchen rein systematischen oder floristischen Inhalts, offen.

Arbeiten, welche einen Vermerk des Verfassers „Kurze Mitteilung" tragen, werden sobald wie möglich außerhalb der Reihenfolge des Eingangs abgedruckt. Ihr Umfang darf 4 Druckseiten nicht überschreiten; die Beigabe von Abbildungen ist nur in Ausnahmefällen angängig.

Die Zeitschrift erscheint zur Ermöglichung raschester Veröffentlichung zwanglos in einzeln berechneten Heften, die zu Bänden vereinigt werden.

Der Autor erhält einen Unkostenersatz von DM 20.— für den 16seitigen Druckbogen, jedoch im Höchstfalle DM 40.— für eine Arbeit. Für „Kurze Mitteilungen" wird ein Unkostenersatz nicht erstattet.

Es wird ausdrücklich darauf aufmerksam gemacht, daß mit der Annahme des Manuskriptes und seiner Veröffentlichung durch den Verlag das ausschließliche Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder an den Verlag übergeht. Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind, und die auch nachträglich nicht anderweitig zu veröffentlichen der Autor sich verpflichtet.

Es ist ferner ohne ausdrückliche Genehmigung des Verlages nicht gestattet, photographische Vervielfältigungen, Mikrofilme, Mikrophotographien u. ä. von den Zeitschriftenheften, von einzelnen Beiträgen oder von Teilen daraus herzustellen.

Die Mitarbeiter erhalten von ihrer Arbeit bis auf weiteres zusammen 75 Sonderdrucke unentgeltlich.

Aufnahmebedingungen siehe 3. Umschlagseite.

Alle Manuskripte und Anfragen sind zu richten an

Professor Dr. Wilhelm Ruhland, (14a) *Unterdeufstetten über Crailsheim*, oder an *Professor Dr. Leo Brauner*, *München 19*, *Menzingerstr. 67*, *Botanisches Inst. der Universität*.

Springer-Verlag

Berlin W 35, Reichpietschufer 20, Fernsprecher 249251
und
Heidelberg, Neuenheimer Landstr. 28—30, Fernsprecher 2701

---

49. Band **Inhaltsverzeichnis** 5. Heft

Reimers, I., Vergleichende zellphysiologische Studien an einigen etiolierten und grünen mono- und dicotylen Pflanzen. Mit 3 Textabbildungen . . 455

Rackow, B., Der Vergleich der assimilatorischen Umsätze von Chlorella pyrenoidosa im „Warburg-Gemisch" (p_H 8,8) und im „Emerson-Gemisch" (p_H 9,4). Mit 2 Textabbildungen 489

Rackow, B., Ist die pflanzliche Photosynthese eine Lichtreaktion mit rückläufiger Dunkelreaktion? Ein Versuch, den Kreisprozeß mit Ferrobicarbonat nachzuweisen. Mit 1 Textabbildung 494

Linser, H., und O. Kiermayer, Zellphysiologische Untersuchungen über die Wirkung von 3-Aminotriazol und 3-(α-Iminoäthyl)-5-methyl-tetronsäure als spezifische Chlorophyllbildungshemmstoffe bei *Elodea canadensis*. Mit 4 Textabbildungen 498

Kessler, E., Untersuchungen zum Problem der photochemischen Nitratreduktion in Grünalgen. Mit 5 Textabbildungen 505

Hager, A., Über den Einfluß klimatischer Faktoren auf den Blattfarbstoffgehalt höherer Pflanzen. Mit 5 Textabbildungen 524

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in dieser Zeitschrift berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, daß solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Planta, Bd. 49, S. 455—488 (1957)

Aus dem Pflanzenphysiologischen Institut der Freien Universität Berlin

VERGLEICHENDE ZELLPHYSIOLOGISCHE STUDIEN AN EINIGEN ETIOLIERTEN UND GRÜNEN MONO- UND DICOTYLEN PFLANZEN

Von

ILSE REIMERS

Mit 3 Textabbildungen

(Eingegangen am 25. März 1957)

Einleitung

Das Problem der Gestaltungsvorgänge beim Etiolement wird auf verschiedene Weise zu lösen versucht. Zur Klärung kann der morphologisch-vergleichende, der physiologisch-vergleichende und der reizphysiologisch-experimentelle Weg eingeschlagen werden.

Vor allem die älteren Autoren führten vergleichende morphologische Untersuchungen durch. Literaturangaben für diese Periode finden sich bei BURKHOLDER (1936), KOLDA (1937) und ÅBERG (1943). Jedoch muß man bei näherem Studium der dort angeführten Arbeiten feststellen, daß trotz der Fülle der Einzelbeobachtungen ein allgemeines Prinzip für das Verhalten der Pflanze im Dauerdunkeln nicht festgestellt werden konnte. Die so oft zitierte Auffassung, daß sich dicotyle Arten im Etiolement durch längere Stengelglieder und kleinere Blätter, die Monocotylen dagegen durch stark verlängerte Blätter auszeichnen, verliert durch viele Ausnahmeerscheinungen an Allgemeingültigkeit (WIESNER 1891, KÜHLHORN 1904, BENECKE u. JOST 1923, KAUFMANN 1924). Ich hielt es daher für angebracht, dem eigentlichen Hauptteil der vorliegenden Arbeit Untersuchungen voranzustellen, die sich mit den allgemeinen Wachstumserscheinungen bei meinen Versuchspflanzen befassen. Hier soll auch kurz Stellung zur allgemeinen Etiolementbeschreibung genommen werden.

Vergleichende zellphysiologische Untersuchungen zur Klärung der Etiolementerscheinungen liegen bisher nur in geringer Anzahl vor. Bestimmungen der potentiellen Azidität des Zellsaftes, die KRAUS schon im vorigen Jahrhundert (1882, 1884) durchführte, sind nur von wenigen Autoren wiederholt worden (CHIBNALL u. GROVER 1925, GUSTAFSON 1925, HURD-KARRER 1939, VICKERY 1952). Das Interesse verschob sich im Laufe der Zeit immer mehr zugunsten der aktuellen Azidität. Daß auch hier die bisherigen Ergebnisse schlecht zu einem allgemeinen Bild zusammengefaßt werden können, zeigt DRAWERT (1955). Kaum besser ist es um die Frage bestellt, ob und wie die Harnstoffaufnahme durch

die pflanzliche Zelle im Etiolement verändert wird (PRIESTLEY 1926, FÜRLINGER 1938, DRAWERT 1948a). Über den osmotischen Wert gibt es einige wenige Angaben bei STILES (1924).

Das Schwergewicht der Untersuchungen aus neuerer Zeit liegt auf dem experimentell-reizphysiologischen Gebiet. Das Ziel dieser Untersuchungen ist es, das Etiolement experimentell aufzuheben oder abzuschwächen, sei es durch bestimmte Lichtreize, sei es durch mechanische oder chemische Einflüsse. Die meisten Untersuchungen beschäftigen sich mit der Bedeutung des Lichtes. Es wurde nicht allein die Abhängigkeit der Etiolementsverhinderung von der Lichtmenge, -stärke und von der Wellenlänge geprüft (WENT 1941, WITHROW 1941, BÜNNING 1941, SCHNEIDER 1941, GOODWIN 1942, ÅBERG 1943, WHITMORE 1944, WEINTRAUB u. PRICE 1947, GOODWIN u. OWENS 1948, 1951, STAFFORD 1948, PARKER u. Mitarb. 1949, BORTHWICK u. Mitarb. 1951, WASSINK u. STOLWIJK 1952, TORREY 1952, WITHROW u. Mitarb. 1953, RUGE 1954), sondern auch die Frage aufgeworfen, wo und wie die Pflanze den Lichtreiz aufnimmt (BÜNNING 1941, RUGE 1954) und wann sie am empfindlichsten für derartige Reize ist (AVERY u. Mitarb. 1937, WENT 1941, THOMSON 1951, 1954).

Aus diesen Untersuchungen läßt sich der Schluß ziehen, daß das übermäßige Längenwachstum beim Etiolement vorwiegend durch das Fehlen der roten und blauen Lichtstrahlen bedingt wird. Dazu äußern einige Autoren (BORTHWICK u. Mitarb. 1951, 1952, DOWNS 1955) die Vermutung, daß das rote Licht von chlorophyll-ähnlichen Pigmenten absorbiert wird und wahrscheinlich die Zellteilung hemmt (WEINTRAUB u. MCALISTER 1942, GOODWIN u. OWENS 1948). Die kurzwellige Strahlung, die auch das Pilzwachstum (BORRIS 1934) reduziert, wird vermutlich vom Lactoflavin absorbiert (GALSTON u. BAKER 1951, REINERT 1952) und soll die Zellstreckung begrenzen (ÅBERG 1943). Aus Ergebnissen von BÜNNING u. Mitarb. (1947, 1948, 1950) und STIEFEL (1952), die das Etiolement durch mechanische Schüttel- und Berührungsreize abschwächen konnten, geht hervor, daß einer der oben erwähnten Strahlungsreize, wahrscheinlich der kurzwellige, einen typischen Erregungsvorgang auslöst. Außer diesen Erregungsvorgängen werden aber, vor allem bei jungen Keimpflanzen mit hohem Auxingehalt, auch Photoinaktivierungen der Wuchsstoffe, diskutiert (VAN OVERBEEK 1936, BÜNNING 1941, LAIBACH 1941). Für das Spreitenwachstum des dicotylen Blattes muß noch dazu die Aktivierung eines Blattwuchsstoffes im Licht angenommen werden.

Ganz gleich, ob man nun eine Änderung im Wuchsstoffgehalt oder eine Erregung als verbindendes Glied in der Kausalkette „Reizverändertes Wachstum" einsetzt, immer bleibt die Frage noch offen, wie diese Faktoren die Wachstumsvorgänge beeinflussen. Jede einzelne

Zelle muß durch sie in ihrer Entwicklung abgewandelt werden. Ein Studium des physiologischen Zustandes der Zelle könnte hier vielleicht weiterhelfen. Deshalb soll in der vorliegenden Arbeit versucht werden, den physiologischen Zustand der Zellen von etiolierten Pflanzen im Vergleich zu solchen, die im Licht wachsen, zu charakterisieren. Dabei soll nur das Streckungswachstum berücksichtigt werden, nicht aber die andersartigen Differenzierungsprozesse beim Etiolement.

I. Versuchsmaterial

1. Versuchspflanzen

Pflanzen lassen sich nur dann für längere Zeit im Dunkeln halten, wenn sie selbst genug Reservestoffe besitzen oder ihnen die nötigen Nährstoffe von außen zugeführt werden. Der einfacheren Kulturbedingungen halber wählte ich nur Pflanzen mit eigenen Reserven, und zwar vorwiegend solche, die sich durch große, nährstoffreiche Samen auszeichnen. — Diese Samen wurden bereits im Dunkeln zur Keimung gebracht und erreichten unter völligem Lichtabschluß das für die Versuche notwendige Alter. Außerdem kamen aber auch Pflanzen zur Verwendung, die vor dem Versuch erst im Licht genügend Reservestoffe sammeln mußten, um ein mehrwöchiges Wachstum im Dunkeln gut zu überstehen. Folgende Pflanzen wurden untersucht:

1. Keimpflanzen von *Vicia faba* L., *Zea mays* L., *Avena sativa* L. und *Triticum spelta* L.

2. ausgewachsene Pflanzen von *Sedum dendroideum* Moc. et Sessé und *Tradescantia fluminensis* Vell.

Für die vergleichenden Untersuchungen an Kulturen im Licht und im Dauerdunkeln wurden zwei nebeneinanderliegende Kellerräume benutzt. Im Lichtraum dienten zur Beleuchtung je 4 Lichtröhren HNT 202 und HNI 202 der Firma Osram (vgl. Ruge 1954). Die Pflanzen waren, je nachdem ob sie in 50 cm Abstand von der Lichtquelle erst keimten oder schon mehr dem Licht entgegengewachsen waren, einer Beleuchtungsstärke von 2000—5000 Lux ausgesetzt. Die 6 Std. Dunkelheit lagen in der Nacht, um eine möglicherweise vorhandene endogene Rhythmik, vor allem bei den Pflanzen, die vorher im Gewächshaus heranwuchsen, nicht zu stören.

Alle Pflanzen im Lichtraum zeigten leicht veränderte Achsen im Vergleich zu solchen, die in voller Sonne standen. Die morphologischen Unterschiede zu den etiolierten Pflanzen waren aber deutlich ausgeprägt. Die Anzucht bei künstlichem Licht gab die Gewähr, daß keine Feuchte- und Temperaturdifferenzen eine Lichtwirkung vortäuschen könnten. Die Temperatur betrug sowohl im Licht- wie im Dunkelraum $14 \pm 1{,}5^{0}$ C. Die Temperatur hielt sich dank der tiefen Lage des Kellers im Sommer und Winter in diesen Grenzen, nur bei sehr strengem Frost wurde eine schwache elektrische Zusatzheizung eingeschaltet. Die relative Feuchte schwankte in beiden Räumen zwischen 94—98%.

2. Vergeilungsgrad der untersuchten Pflanzen

Da aus den Literaturangaben kaum allgemeine Voraussagen über das morphologische und anatomische Aussehen vergeilter Pflanzen zu machen sind, mußte ich zunächst untersuchen, wie sich die von mir gewählten Pflanzenarten im Etiolement verhalten. Trotz möglichst konstanter Außenbedingungen und konstantem Ausgangsmaterial (nach

ihrer Größe sortierte Samen oder gleich weit entwickelte Gewächshauspflanzen) war das Wachstum erheblichen individuellen Schwankungen unterworfen; deshalb soll hier nur der durchschnittliche Wert mehrerer Pflanzen (15—30) bei der Beschreibung des Wachstumsablaufes angeführt werden.

a) *Vicia faba* verkörperte den Dicotylentyp im Etiolement. Der Stengel der vergeilten Pflanze streckte sich über das normale Maß und die Blattspreiten blieben klein und unentwickelt. Das Blatt erreichte nur rund 60% der normalen Spreitenbreite und 40% der Spreitenlänge; der Blattstiel war verlängert. Der Stengel wuchs zunächst recht schnell (bis zu 40% mehr als der der normalen Pflanze); nach ungefähr 35 Tagen jedoch verlor er an Wachstumsgeschwindigkeit, so daß er schließlich in der Länge mit den Kontrollen im Licht übereinstimmte, wenn nicht sogar diesen unterlegen war. Während aber der im Licht gewachsene Stengel in dieser Zeit viele kurze Internodien gebildet hatte, zeigten die Internodien des etiolierten Stengels sehr unterschiedliche Längen; die ersten waren stark verlängert (1. Internodium um 800%, 2. um 150%, 3. um 30% länger als normal), die folgenden dagegen noch wenig entwickelt. Daß dieser Wachstumsmodus bei etiolierten dicotylen Arten allgemein verbreitet ist, geht aus den Untersuchungen von Kühlhorn (1904) an Holzpflanzen, von Kolda (1937) an *Pisum sativum* und *Vicia faba*, von Went (1941) ebenfalls an *Pisum sativum* und von Eaton u. Ergle (1954) an Baumwolle hervor.

b) *Sedum dendroideum* gehört als Dicotyle dem eben geschilderten Typ an. Pflanzen, die 14—30 Tage im Dunkeln wuchsen, streckten sich im oberen Teil des Stengels rund fünfmal so stark wie die belichteten. Die Blätter, die noch im Licht angelegt worden waren, wuchsen auch im Dunkeln fast zu derselben Länge wie normal aus, aber statt der Spreite streckte sich vorwiegend der Blattstiel. Dabei wurde die normale Breite der Lamina in keinem Falle erreicht. Es war also wie bei *Vicia faba* das Flächenwachstum des Blattes gehemmt. Neue Blätter wurden im Dunkeln nicht mehr angelegt.

c) *Tradescantia fluminensis* gehört zwar zu den Monocotylen, die Blätter vermögen sich aber im Dunkeln kaum noch weiterzuentwickeln; die Spreite wurde nicht mehr verbreitert (neue Blätter trieben überhaupt nicht aus), nur in der Länge war manchmal noch ein schwacher Zuwachs zu verzeichnen, vor allem im unteren Teil des Oberblattes. Die Blattscheide verlängerte sich übernormal, und der Stengel streckte sich weit über das übliche Maß.

d) *Avena sativa* zeigte eine starke Streckung des Mesocotyls bei Lichtabwesenheit. Die Coleoptile begann zwar mit ihrem Wachstum etwas später als bei der Lichtpflanze, gewann aber bald auch eine beachtliche Länge. Avery u. Mitarb. (1937) interessierten sich vorwiegend für die Entwicklung des Mesocotyls, sie untersuchten daher nur recht junge Pflanzen. Ich verfolgte die Entwicklung bis zu einem Alter von 25 Tagen. Diese Pflanzen zeigten neben dem sehr langen Mesocotyl (bis zu 3 cm, im Licht nur wenige mm) und der verlängerten Coleoptile (2—3mal so lang wie normal) zum Teil auch eine Streckung des ersten Internodiums, das zwischen dem Coleoptilenansatz und dem ersten Blatt liegt. In einigen wenigen Fällen konnte man eine Länge von 5—6 cm messen. Warum dieses Internodium nicht bei allen Pflanzen auswuchs, ließ sich nicht feststellen. Das erste Blatt begann sein Streckungswachstum ebenso wie die Coleoptile verspätet, holte dann aber schnell an Größe auf, überflügelte oft sogar das grüne Blatt in seiner Länge um 10—20% — die Breite der Spreite blieb dabei gleich. Dann ließ das Wachstum bei einsetzendem Turgorverlust allmählich nach, so daß im Endeffekt das Blatt, vor allem das Oberblatt, und damit auch die ganze etiolierte

Pflanze wieder kürzer erschien als die Kontrolle. Dieser Wachstumsabfall dürfte auf einer Erschöpfung des Endosperms beruhen, denn auch das zweite Blatt blieb immer unentwickelt.

e) *Zea mays* stimmte im Wachstum grundsätzlich mit dem Hafer überein. Auch sein Mesocotyl konnte im Etiolement bis zu 6 cm auswachsen, die Coleoptile wurde ebenfalls 2—3mal so lang wie normal. Das erste Internodium blieb jedoch hier durchweg winzig. Der Entwicklungsbeginn des Blattes wurde genau, wie oben geschildert, verzögert, so daß auch beim Mais das Blatt zunächst kürzer erschien. Während aber unter dem Einfluß des Lichts das erste Blatt am 25.—30. Tage sein Wachstum einstellte und von der Spitze her abzutrocknen begann, streckte sich das etiolierte Blatt, vor allem sein Oberblatt, unablässig weiter und übertraf am 30. Tag dann die grünen Kontrollen um 50—100% an Länge. Die vergeilte Pflanze war zu diesem Zeitpunkt noch vollturgeszent. Da aber die Lichtkontrolle jetzt mehrere lange Blätter entwickelt hatte, bei der etiolierten jedoch das zweite Blatt und die folgenden noch enggerollt in der Blattscheide des ersten Blattes steckten, war im ganzen gesehen die etiolierte Pflanze immer noch um 30—40% kleiner.

f) *Triticum spelta* zeigte auch im Etiolement kein Auswachsen des Mesocotyls. Dafür streckte sich das erste Internodium, wie bei manchen etiolierten Haferpflanzen, bis zu einer Länge von 6—7 cm. Normalerweise betrug die Länge dieses Internodiums nur wenige mm. Die Coleoptile war immer viel länger, das erste Blatt überflügelte ebenfalls sehr bald das entsprechende grüne, ließ dann aber im Alter (28—30 Tage) im Wachstum nach.

g) *Hordeum vulgare* verhielt sich ähnlich wie *Triticum*. An vergeilten Pflanzen blieb das Mesocotyl klein; das erste Internodium zwischen der Coleoptile und dem ersten Blatt wuchs dafür stark aus. Die Entwicklung des ersten Blattes war wie beim Mais recht verzögert, so daß ungefähr bis zum 20. Tag die Blattscheide und das Oberblatt hinter dem grünen Blatt in der Länge zurückstanden, es dann aber in der Folgezeit, bis zum 30. Tag, an Länge übertrafen.

Aus diesen Beschreibungen ist ersichtlich, daß nicht ein bestimmtes Organ auf Lichtmangel besonders reagiert, sondern daß ganz allgemein im Etiolement die frühen Entwicklungsstadien der gesamten Pflanze auf Kosten der späteren verlängert sind. Ähnliches vermutet schon Thomson (1951). Jedes Organ bleibt also länger als normal in der Streckungsphase, und, da das Wachstum der jüngeren Pflanzenteile, wenigstens wie es Stafford (1948) für *Phleum* beschreibt, korrelativ mit dem Wachstum des ältesten verknüpft sein soll, beginnen die übrigen Organe dann ihre Entwicklung entsprechend später. Das Wachstum des Blattes und vor allem das der Blattspreite ist jedoch bei vielen Dicotylen, aber auch bei *Tradescantia* im Dunkeln gestört.

Die Entwicklungsverzögerung des Stengels und der Gramineenblätter im Etiolement machte eine vergleichende Analyse schwierig; eine 6 Tage alte Weizenpflanze z. B. besaß im Licht schon ein gut entwickeltes Blatt, bei der etiolierten war dieses noch enggerollt und völlig von der Coleoptile umschlossen, am 15. Tag hingegen war das vergeilte Blatt erheblich länger als das grüne. Es war also genauestens auf das Alter und auf die diesem Alter entsprechenden Längenverhältnisse zu achten, wenn das Streckungswachstum im Licht und im Dunkeln untersucht werden sollte.

Tabelle 1. *Ausmaße der etiolierten Pflanze im Vergleich zur grünen*

a) Dicotylen und *Tradescantia*

Alter in Tagen	Gesamtgröße	Untersuchtes Internodium	Stengelzellgröße		Blattlamina		Blattzellgröße	
			Länge	Breite	Länge	Breite	Länge	Breite
Vicia: 22—26	größer (+35%)	länger (+150%)	länger (+70%)	gleich	kürzer (—60%)	schmaler (—40%)	kürzer (—70%)	schmaler (—60%)
Sedum[1]*:* 18—22	größer[1] (+400%)	länger (+400%)	länger (+100%)	kürzer (—40%)	kürzer (—30%)	schmaler (—10%)	kürzer (—8%)	gleich
Tradescantia[1]*:* 15—18[1]	größer[1] (+100%)	länger (+100%)	länger (+60%)	gleich	kürzer (—10%)	gleich	kürzer (—10%)	gleich

b) Gramineen

Alter in Tagen	Gesamtgröße	1. Blattscheide	Blattscheidenzelle		Oberblatt		Blattzellgröße		Coleoptile	Coleoptilenzelle	
			Länge	Breite	Länge	Breite	Länge	Breite		Länge	Breite
Zea: 20—25	kleiner (—30%)	kürzer (—5%)	kürzer (—2%)	schmaler (—3%)	kürzer (—10%)	gleich	kürzer (—10%)	gleich	länger (+150%)	länger (+80%)	gleich
Avena: 12—17	größer (+20%)	gleich	länger (+10%)	gleich	gleich	gleich	länger (+20%)	gleich	länger (+180%)	länger (+110%)	gleich
Triticum: 14—18	größer (+30%)	länger (+30%)	länger (+15%)	gleich	länger (+15%)	gleich	länger (+30%)	gleich	länger (+35%)	länger (+25%)	gleich

[1] nur die Zuwachswerte während des Verdunkelungsversuches berechnet.

In Vorversuchen stellte ich daher zunächst fest, welche Altersstufe sich am besten für die geplanten Experimente eignete, und maß dann die diesem Alter zukommenden Größen. Neben der Gesamthöhe wurden die Organe vermessen, die zu den physiologischen Versuchen herangezogen wurden. Tabelle 1 gibt an, wie sich die etiolierte Pflanze von der Lichtkontrolle unterscheidet. Ich gebe nur Näherungswerte, da die individuellen Schwankungen im Wachstum recht erheblich waren, habe aber während der folgenden Experimente stets darauf geachtet, daß die untersuchten Pflanzen den Angaben in Tabelle 1 möglichst entsprachen.

Von *Zea*, *Triticum*, *Avena* und *Vicia* nahm ich jeweils die erste Blattspreite bzw. das erste Blattspreitenpaar, von *Sedum* und *Tradescantia* die zweitjüngste. Außerdem wurden Schnitte vom zweiten Internodium der Saubohne, von den obersten (2. + 3.) Internodien von *Sedum* und *Tradescantia* angefertigt und bei den Gramineen von der Blattscheide des ersten Blattes, z. T. auch von der Coleoptile. Die angegebenen Zellmaße gelten für die Epidermis (außer der Coleoptile; hier wurden die subepidermalen Zellen verglichen, da die Epidermiszellen sehr stark verlängert waren [ungefähr 7×]).

Wie aus den Zellmaßen in Tabelle 1 zu ersehen ist, steht die Zellgröße anscheinend in Abhängigkeit zur Gesamtgröße des Organs. Diese Beobachtung machten schon Sachs (1863), Kraus (1869) und Küster (1925) und schlossen daraus, daß die Verlängerung eines etiolierten Organs auf erhöhter Zellstreckung beruht. Daneben ist aber auch, wie etliche Autoren (Beyrer 1913, Brotherton u. Bartlett 1918, Avery u. Mitarb. 1937, Araki 1939, Thomson 1954) angeben, eine erhöhte Zellteilung für die übernormale Länge der Organe im Dunkeln verantwortlich zu machen. Dies paßt gut zur Vorstellung von einer *Entwicklungsverzögerung* im Etiolement.

II. Versuchsergebnisse

Wenn im vorigen Abschnitt die Annahme eines verzögerten Entwicklungsablaufes des Gewebes und damit also jeder einzelnen Zelle gemacht wird, dann müßte sich die etiolierte Pflanze, die abnorme Längenausmaße zeigt, auch im physiologischen Zustand ihrer Zellen als Ausdruck eines bestimmten Alters von der grünen unterscheiden. Ob wirklich solche Unterschiede bestehen, soll in folgenden vergleichend-zellphysiologischen Experimenten geprüft werden. Zur Charakterisierung des Zellzustandes wird der osmotische Wert und die Wasserstoffionenkonzentration des Zellsaftes sowie das Verhalten des Plasmas in der Plasmolyse und das Aufnahmevermögen der Zelle für Wasser, Harnstoff und Farbstoffe herangezogen. In der Hauptsache beruhen die Befunde auf Messungen unter dem Mikroskop an lebenden Handschnitten.

Die Pflanzen wurden jeweils sofort nach der Entnahme aus dem Licht- bzw. Dunkelraum geschnitten, mit Wasser infiltriert — besonders gründliche Infiltration ist bei allen Gramineen notwendig — und dann gleich in die Versuchslösungen

gebracht. Auf eine längere Wässerung wurde verzichtet, da die etiolierten Zellen recht empfindlich sind, und vor allem jeder längere Aufenthalt des vergeilten Gewebes im Licht vermieden werden sollte. Die Schnitte befanden sich immer in diffuser Beleuchtung.

Neben der mikroskopischen Beobachtung der Schnitte wurde für einige Versuche auch noch eine Untersuchung des Preßsaftes vorgenommen.

Sowohl bei der Preßsaftgewinnung als auch bei der Beobachtung an Schnitten wurden immer etiolierte und belichtete Pflanzen gleichzeitig untersucht. Die Schnitte kamen stets in die gleiche Lösung; meistens waren sie schon mit dem bloßen Auge am Farbton oder mikroskopisch an ihrem anatomischen Bau auseinanderzuhalten, andernfalls wurden sie durch besondere Markierung unterscheidbar gemacht. Die etiolierten und belichteten Gewebe wurden stets nebeneinander unter demselben Deckgläschen mikroskopisch untersucht.

Die Meßwerte sind tabellarisch zusammengestellt. Der mitangegebene Fehler ist oft im Verhältnis zu den erzielten Unterschieden zwischen Lichtkontrolle und vergeilter Pflanze sehr hoch; kaum einmal übersteigt eine beobachtete Differenz den dreifachen mittleren Fehler. Dennoch muß man den Differenzen Beachtung schenken, weil sie trotz der großen individuellen Schwankungen der Einzelwerte an sich reproduzierbar sind.

1. Osmotischer Wert

a) Plasmolytische Bestimmung. Da die untersuchten Zellen z. T. stark gewellte Wände hatten (Blattepidermiszellen von *Vicia*, mehr oder weniger auch alle Epidermiszellen der Gramineen) oder isodiametrisch waren, konnte der osmotische Wert nur grenzplasmolytisch bestimmt werden. Als möglichst unschädliches Plasmolyticum verwandte ich Saccharose. In Tabelle 2 sind die erhaltenen Ergebnisse zusammengefaßt.

Tabelle 2. *Osmotischer Wert in Vol.-Mol. und in atm.* (plasmolytisch bestimmt an Epidermiszellen im Flächenschnitt)

		Belichtet		Etioliert		Zahl der Versuche
		Vol.-Mol	atm.	Vol.-Mol.	atm.	
Vicia	Blatt	0,31 ±0,01	8,4	0,48 ±0,01	13,7	20
	Stengel	0,36 ±0,01	9,9	0,30 ±0,01	8,1	20
Sedum, alt	Blatt	0,182 ±0,003	4,8	0,187 ±0,006	4,9	12
jung	Blatt	0,224 ±0,004	5,9	0,232 ±0,005	6,1	10
	Stengel	0,342 ±0,005	9,3	0,324 ±0,005	8,7	10
Tradescantia	Blatt	0,18 ±0,01	4,8	0,22 ±0,01	5,8	20
	Stengel	0,35 ±0,01	9,6	0,28 ±0,01	7,6	20
Zea	Blatt	0,27 ±0,01	7,3	0,29 ±0,01	7,8	20
	Blattscheide	0,26 ±0,01	7,0	0,28 ±0,01	7,6	20
Avena	Blatt	0,38 ±0,01	10,5	0,35 ±0,01	9,6	20
Triticum	Blatt	0,43 ±0,01	12,1	0,38 ±0,01	10,5	20

Nach Stiles (1924) sollen etiolierte Pflanzen einen niedrigeren osmotischen Wert als normale haben. Wie aus der Tabelle 2 ersichtlich, scheint ein erniedrigter osmotischer Wert nicht allgemein für vergeilte Organe typisch zu sein. Die etiolierten Blätter von *Vicia*, *Sedum*, *Tradescantia* und *Zea* und die Blattscheide von *Zea* zeigen erhöhte Werte.

Die Blätter von *Triticum* und *Avena* dagegen verhalten sich umgekehrt, und auch die Stengelwerte sind erniedrigt. Dabei fällt auf, daß sowohl die untersuchten Stengel als auch das Weizenblatt im Etiolement zu diesem Zeitpunkt viel länger sind als die Lichtproben; die Organe aber, die einen erhöhten osmotischen Wert aufweisen, mehr oder weniger kürzer geblieben sind. Es besteht also die Möglichkeit, daß die osmotischen Werte in umgekehrter Beziehung zum Streckungsgrad stehen.

Obwohl man bei der Bestimmung des osmotischen Wertes mit der plasmolytischen Methode den großen Vorteil hat, daß der Wert an lebenden Zellen gemessen wird, darf man doch die vielen Fehlermöglichkeiten dieser Methode nicht übersehen. Möglicherweise können durch Permeation des Zuckers, unterschiedliche Wasserpermeabilität und Wandhaftung des Plasmas, allgemeine Empfindlichkeit der Zelle gegen Eingriffe jeglicher Art und Eigenregulation (Oppenheimer 1932) und anosmotische Stoffaufnahme (Studener 1948, Brauner und Hasman 1952, Bogen und Follmann 1955) nicht existierende Unterschiede im osmotischen Wert vorgetäuscht werden. Es ist daher wie Oppenheimer betont, nur zulässig, Schlußfolgerungen aus osmotischen Wert-Bestimmungen zu ziehen, wenn eine zweite Methode zu gleichen Unterschieden geführt hat.

b) Kryoskopische Bestimmung. Zur Preßsaftgewinnung sammelte ich die Pflanzenorgane in weiten Reagensgläsern, verkorkte diese und ließ sie eine halbe Stunde in kochendem Wasser. Nach dem Abkühlen wurde das Pflanzengewebe sofort in kleinen Leinenläppchen zwischen zwei Messingplatten mit Hilfe einer Schraubzwinge ausgepreßt und der abtropfende Preßsaft (ungefähr 4 cm^3) mit einem Mikrokryoskop gemessen. Die benötigte Menge an Preßsaft, die ohnehin schon so niedrig wie möglich gehalten wurde, war bei den wenig wasserreichen Gramineen und den kleinen etiolierten Blättern der Dicotylen recht schwer zu gewinnen. Es waren oft 40—80 Pflanzen dazu notwendig.

Da Oppenheimer (1932) davor warnt, daß bei der Abtötung durch längeres Kochen bei 100° C der Zellsaft durch chemische Spaltungsvorgänge und Verdunsten im osmotischen Wert verändert werden kann, tötete ich in Parallelversuchen das Gewebe auch durch Gefrieren ab. Die Pflanzenstücke wurden in verkorkten Reagensgläsern für 3—4 Std. in einer Kältemischung von —6° bis —12° C gelassen, dann schnell aufgetaut und wie oben ausgepreßt.

Zwischen den Ergebnissen beider Methoden ist kein wesentlicher Unterschied zu beobachten.

Natürlich ist die Preßsaftmethode wiederum mit anderen Fehlern, vor allem einer Verfälschung des Zellsaftes durch den Inhalt der Gefäße und durch Plasmaflüssigkeit oder durch chemische Veränderung während des Pressens (Oppenheimer 1932) belastet, aber für die hier zu klärende Frage genügt es, daß Wertunterschiede bei der kryoskopischen und bei der plasmolytischen Methode in gleicher Richtung bestehen. Wie aus einem Vergleich der Tabellen 2 und 3 hervorgeht, liegen nur die osmotischen Werte für die etiolierte Blattscheide vom Mais und für das

Tabelle 3. *Osmotischer Wert in atm.* (kryoskopisch bestimmt)

		Belichtet	Etioliert	Zahl der Versuche
Vicia	Blatt	8,1	9,8	10
	Stengel	8,7	7,2	10
Sedum	Blatt	4,5	4,0	5
	Stengel	6,6	6,0	5
Tradescantia	Blatt	4,7	5,6	5
	Stengel	7,2	6,3	5
Zea	Blatt	6,7	6,7	10
	Blattscheide + Coleoptile	6,9	6,7	10
Avena	Blatt	8,5	7,5	10
Triticum	Blatt	9,5	8,9	20

Sedum-Blatt plasmolytisch gemessen über dem Normalwert, kryoskopisch aber darunter. Beim Mais könnte die Ursache darin zu suchen sein, daß ich, da die Blattscheide der etiolierten Pflanze weit von der Coleoptile umschlossen wird, diese miterntete und auspreßte. Ihr Zellsaft hat aller Wahrscheinlichkeit nach schon einen recht niedrigen osmotischen Wert, auf jeden Fall einen niedrigeren als die Blattscheide, weil die Coleoptile älter ist. Es ist also möglich, daß dadurch der gesamte osmotische Wert herabgedrückt wird. Beim *Sedum*-Blatt konnte ich schlecht die Grenze zwischen Stiel und Spreite feststellen und verwendete deshalb zur Preßsaftgewinnung das ganze Blatt, also einschließlich des im Dunkeln verlängerten Stiels. Möglicherweise gilt hier die gleiche Erklärung.

Ein Vergleich der plasmolytisch gewonnenen mit den kryoskopisch erhaltenen Ergebnissen ergibt, daß man mit der plasmolytischen Methode höhere Werte erhält als mit der kryoskopischen (vgl. auch Oppenheimer 1932 und Overbeck 1957).

Da die Preßsaftmethode nur Durchschnittswerte des gesamten Gewebes liefert, die plasmolytische jedoch nur an Epidermiszellen durchgeführt wurde, ließe sich annehmen, daß vielleicht die Parenchymzellen einen niedrigeren osmotischen Wert als die der Epidermis besitzen. Untersuchungen an Querschnitten entkräfteten aber diesen Einwand.

Zusammenfassend ist also festzuhalten, daß die osmotischen Werte erhöht sind bei den etiolierten Organen, die in ihrem Wachstum nicht an die normalen heranreichen, und erniedrigt sind bei denjenigen, die im Etiolement übernormale Streckung erfahren oder wenigstens — wie das *Avena*-Blatt — gleich lang werden. Die auf plasmolytischem Wege an Epidermiszellen gefundenen Werte gelten auch für die übrigen Zellen; sie liegen durchweg über den kryoskopisch ermittelten.

2. Potentielle Acidität

Wenn Unterschiede im osmotischen Wert bei den verglichenen Pflanzen auftreten, so erhebt sich die nächste Frage, welche osmotisch wirksamen Stoffe dabei vermindert oder vermehrt werden. Von den Succulenten ist bekannt, daß im Dunkeln die Säuremenge erhöht ist. Die zunächst sehr hohe Säuremenge bleibt zwar bei längerem Lichtmangel nicht bestehen, aber sie liegt immer noch über dem Tageswert (GUSTAFSON 1925, VICKERY 1952). Außerdem berichtet KRAUS (1882, 1884) über eine allgemeine Erhöhung der titrierbaren Säuremenge beim Vergeilen. Eine Nachprüfung der potentiellen Acidität schien daher angebracht.

Tabelle 4. *Titrierbare Säuremenge* (in cm³ verbrauchte n/40 NaOH)

		Belichtet	Etioliert	Zahl der Versuche
Vicia	Blatt	2,26 ± 0,19	4,20 ± 0,26	10
	Stengel	2,17 ± 0,19	2,68 ± 0,20	10
Sedum, mittags	Blatt	0,58 ± 0,22	1,45 ± 0,24	5
	Stengel	0,75 ± 0,18	1,85 ± 0,25	5
Tradescantia	Blatt	0,68 ± 0,09	0,94 ± 0,11	5
	Stengel	0,55 ± 0,15	0,87 ± 0,18	5
Zea	Blatt	1,77 ± 0,12	2,10 ± 0,13	5
	Blattscheide	1,21 ± 0,11	1,87 ± 0,14	5
Avena	Blatt	1,47 ± 0,08	2,06 ± 0,08	10
Triticum	Blatt	1,53 ± 0,04	2,62 ± 0,11	10

Zur Titration nahm ich die Preßsäfte, die schon zur kryoskopischen Messung gedient hatten. Sofort nach der Gefrierpunktsbestimmung führte ich die Titration an je 1 cm³ Preßsaft mit n/40 NaOH-Lösung aus; als Indikator diente Phenolphthalein. Jede Titration wurde mehrmals wiederholt.

Je nachdem, ob durch Kochen oder durch Gefrieren abgetötet worden war, ergaben sich geringe Unterschiede in der potentiellen Acidität ein und desselben Gewebes. Die Preßsäfte aus gefrorenem Gewebe enthielten meist etwas mehr titrierbare Säure. Der Unterschied ist aber im Vergleich zu den allgemeinen Schwankungen der Meßwerte unbedeutend und scheint bei etiolierten und belichteten Pflanzen gleichsinnig aufzutreten. Sehr wahrscheinlich beruht der Unterschied darauf, daß beim Kochen des Gewebes das Kohlendioxyd ausgetrieben wird.

Die Tabelle 4 gibt nur Werte von Preßsäften aus gekochtem Gewebe an. Bei allen Arten enthalten die etiolierten Pflanzen eine höhere Menge titrierbarer Säure je Flüssigkeitsvolumen als die im Licht gewachsenen. Osmotischer Wert und Säuremenge werden also nicht immer parallel verändert.

3. Aktuelle Acidität

Wichtiger als die eben besprochene potentielle Acidität mag für den gesamten Zellstoffwechsel der p_H-Wert sein. Demzufolge gibt es auf

diesem Gebiet auch mehr Angaben für etiolierte Pflanzen. HAAS (1920) verglich z. B. grüne Maiskeimlinge mit etiolierten und fand bei den vergeilten eine geringere Wasserstoffionenkonzentration, ebenso CHIBNALL u. GROVER (1926) bei etiolierten *Brassica*-Blättern und DRAWERT (1948a) bei Blättern von *Sedum weinbergii*, *S. praealtum* und bei dem Sproßgipfel von *Bryophyllum daigremontianum*. Man könnte also annehmen, daß im Etiolement eine Absäuerung des Zellsaftes eintritt. Aber schon DRAWERT warnt vor einer Verallgemeinerung, da er bei *Triticum* eine Ansäuerung im etiolierten Blatt feststellt, und 1955 spricht er die Vermutung aus, daß diese sich widersprechenden Ergebnisse vielleicht auf eine verschiedene Wachstumsgeschwindigkeit der untersuchten Organe zurückzuführen seien.

Leider gibt es, wie DRAWERT (1955) betont, noch keinen einwandfreien Weg zur p_H-Bestimmung im Zellsaft. Als zuverlässigste Methode erweist sich immer noch die elektrometrische Messung an Preßsäften, auch wenn sie nur Durchschnittswerte von totem Gewebe liefert und mit den schon bei der Preßsaftgewinnung für die Kryoskopie diskutierten Fehlern behaftet ist. CHIBNALL u. GROVER (1926) kommen auf Grund verschiedener Preßsaftgewinnungen — Cytolyse in Äther und Zerhacken des Gewebes — zu dem Schluß, daß der Einfluß der Plasmaflüssigkeit zu gering ist, um den Zellsaftwert zu verschieben. Ich prüfte in

Tabelle 5. *p_H-Werte der Preßsäfte* (mit der Glaselektrode gemessen)

		Belichtet	Etioliert	Zahl der Versuche
		a)		
Vicia	Blatt	5,75 ± 0,04	5,84 ± 0,02	10
	Stengel	5,62 ± 0,03	5,62 ± 0,08	10
Sedum, morgens	Blatt	5,32 ± 0,05	5,55 ± 0,06	5
	Stengel	5,14 ± 0,04	5,30 ± 0,04	5
Tradescantia	Blatt	6,00 ± 0,05	6,12 ± 0,04	5
	Stengel	5,79 ± 0,05	5,84 ± 0,06	5
Zea	Blatt	5,63 ± 0,04	5,64 ± 0,04	10
	Blattscheide (+ Coleoptile)	5,53 ± 0,05	5,46 ± 0,04	10
Avena	Blatt	5,78 ± 0,04	5,85 ± 0,04	14
	Blattscheide (+ Coleoptile)	5,74 ± 0,05	5,54 ± 0,05	10
Triticum	Blatt	5,74 ± 0,04	5,74 ± 0,04	20
	Blattscheide (+ Coleoptile)	5,70 ± 0,04	5,68 ± 0,06	10
		b)		
Zea	Blattscheide	5,58 ± 0,04	5,58 ± 0,06	10
Avena	Blattscheide	5,74 ± 0,05	5,82 ± 0,06	10
Triticum	Blattscheide	5,71 ± 0,05	5,79 ± 0,05	10

Vorversuchen, ob während des Abtötens durch Kochen schnell ablaufende chemische Reaktionen den p_H-Wert verändern. Im Vergleich zu Preßsäften aus gefrorenem Gewebe zeigten die Preßsäfte der gekochten Pflanzen außer beim *Vicia*-Blatt leicht höhere Werte an. Auch hier könnte das beim Kochen entwichene Kohlendioxyd dafür verantwortlich zu machen sein. Wichtig ist, daß sowohl etiolierte als auch grüne Gewebepreßsäfte parallele Verschiebungen zeigten, und da es hier nur auf relative Werte ankommt, beziehen sich die in Tabelle 5 aufgeführten Werte nur auf Preßsäfte, die aus erhitztem Gewebe stammten.

Sofort nach dem Auspressen kam der Saft zur Messung. Durch eine besondere Einrichtung waren zur p_H-Bestimmung mit der Glaselektrode nur 1—1½ cm³ Flüssigkeit notwendig, so daß immer mit unverdünnten Preßsäften gearbeitet werden konnte.

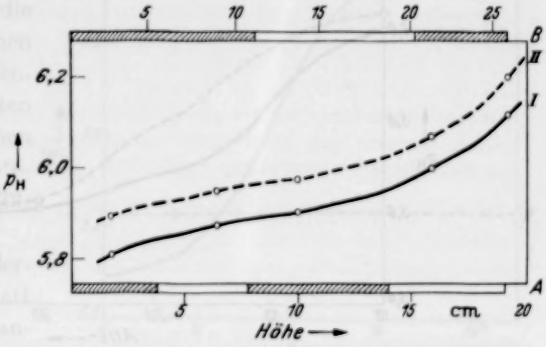


Abb. 1. p_H-Werte des Preßsaftes aus den einzelnen Internodien von 15 Tage alten *Vicia faba*-Pflanzen. Kurve *I* = normale grüne Pflanzen; Kurve *II* = etiolierte Pflanzen. Abszisse *A* = Internodien der grünen, Abszisse *B* = Internodien der etiolierten Pflanzen (Durchschnitt von je 10 Pflanzen)

Aus Tabelle 5a ist zu entnehmen, daß zwar vorwiegend eine Absäuerung im Etiolement eintritt; bei einigen vergeilten Organen (Blattscheide + Coleoptile bei allen Gramineen) ist aber auch eine höhere Wasserstoffionenkonzentration zu verzeichnen. Es war naheliegend, bei den Gramineen diese Erscheinung auf das Verhalten der Coleoptile zurückzuführen, die ja mitausgepreßt wurde. Die Coleoptile wird im Dunkeln sehr lang, so daß sie auf Grund ihres starken Wachstums zu einer stärkeren Ansäuerung führen kann. Diese Annahme wird bestätigt, wenn man Preßsaft nur von der Blattscheide herstellt, so weit sie aus der Coleoptile herausragt. Wie Tabelle 5b besagt, ist der Preßsaft jetzt weniger sauer. Man sieht auch deutlich, daß der Preßsaft bei den im Dunkeln stärker verlängerten Coleoptilen eine größere Verschiebung erlitten hat. Es bestätigt sich also die Annahme von Drawert (1955), daß sehr stark wachsende Pflanzenorgane auch im Etiolement eine Ansäuerung erfahren.

Gleichgültig aber, ob das vergeilte Organ schnell wächst oder nicht, ist im Vergleich mit belichtetem Gewebe gleicher physiologischer Aktivität allgemein eine Absäuerung des Zellsaftes im Etiolement typisch. Diese Absäuerung betrifft alle Zellen, sowohl die meristematischen als auch die sich streckenden. Ein Vergleich der p_H-Werte einzelner Stengelabschnitte, von der Basis bis zur Spitze der Pflanze verfolgt, zeigt dies deutlich, wie die Kurven in Abb. 1 veranschaulichen. Um die Kurve der

etiolierten Pflanze mit der der normalen vergleichen zu können, wählte ich die auf der Abszisse aufgetragenen Einheiten so, daß die Spitzen des etiolierten und normalen Stengels am gleichen Punkt der Abszisse liegen.

Auch bei der Verfolgung des p_H-Wertes in Abhängigkeit vom Alter der gesamten Pflanze findet man stets den weniger saueren Wert für das etiolierte Organ, wie Abb. 2 zu entnehmen ist. Zwar nähern sich die Werte sehr im Alter von 24—30 Tagen, später ist der Unterschied aber wieder größer. Möglicherweise ist die ältere etiolierte Pflanze schon so stark geschädigt, daß eine Absäuerung als letzter Alterungsprozeß, wie ihn auch BOGEN (1938) für *Gentiana* angibt, eintritt.

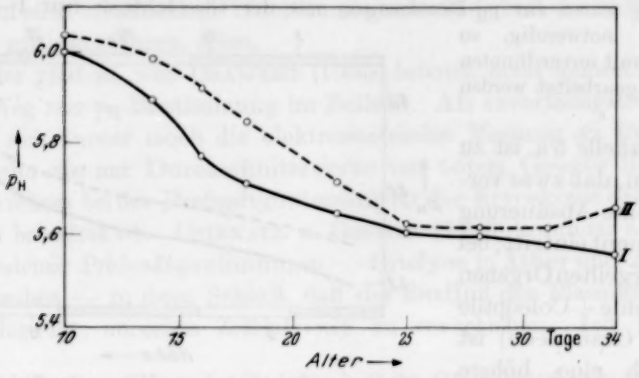


Abb. 2. p_H-Werte des Preßsaftes aus dem ganzen Stengel verschieden alter Pflanzen von *Vicia faba*. Jeder Wert stellt den Durchschnitt aus 5 Pflanzen dar. Kurve *I* = normale grüne Pflanzen; Kurve *II* = etiolierte Pflanzen

Eine langsamere Ansäuerung des Zellsaftes scheint nicht nur in den im Dunkeln mehr oder weniger gut wachsenden Pflanzenorganen (alle Stengelglieder und Gramineen-Blätter) vorzukommen, sondern läßt sich auch bei den sehr schlecht bis kaum wachsenden Blättern der Dicotylen und von *Tradescantia* beobachten. Auch ein etioliertes *Vicia*-Blatt erleidet trotz geringster äußerer Veränderung eine schwache Ansäuerung während des Alterns, bleibt aber dabei auf jeden Fall im p_H-Wert über dem des gut entfalteten belichteten Blattes, das dem etiolierten anlagemäßig homolog ist, aber auch noch schwach über dem der oberen kleinen, noch unentfalteten Blätter der grünen Sproßspitze, wie Tabelle 6 zeigt.

Tabelle 6. *p_H-Werte von Vicia-Blättern*

Alter der Pflanze (in Tagen)	Belichtet		Etioliert, erstes Blattpaar
	erstes Blattpaar	jüngstes Blattpaar	
10	unentfaltet 6,12		unentfaltet 6,24
18	voll entfaltet 5,85	unentfaltet 6,02	unentfaltet 6,20
24	voll entfaltet 5,75	unentfaltet 5,80	unentfaltet 5,84

Das Verhalten der etiolierten *Sedum*-Pflanze verlangt noch eine getrennte Betrachtung, da *Sedum* als Succulente besonderen tageszeitlichen p_H-Schwankungen unterworfen ist. Je nachdem ob man morgens oder mittags die p_H-Werte bestimmt, bekommt man einmal für das etiolierte Blatt einen weniger saueren Wert als normal, später im Laufe des Tages aber einen stärker saueren (Abb. 3). Der p_H-Wert des vergeilten Blattes bleibt konstant und liegt zwischen dem Minimum und Maximum der p_H-Werte im gleichaltrigen belichteten Blatt. Dieselbe Erscheinung beobachtete Gustafson (1925) an *Bryophyllum calycinum*.

Abb. 3 stellt die Verhältnisse von ausgewachsenen Blättern dar; aber auch die jüngeren führen zu ähnlichen Ergebnissen. Hier liegt ebenfalls der Wert des etiolierten Gewebes ($p_H = 5{,}55$) zwischen den Tageswerten des belichteten Blattes (morgens $p_H = 5{,}32$; abends $p_H = 5{,}68$).

Der Stengel ist normalerweise entsprechend dem Blatt tageszeitlichen p_H-Schwankungen unterworfen (morgens $p_H = 5{,}14$; abends $p_H = 5{,}57$). Der Wert des etiolierten Organs liegt in gleicher Weise in der Mitte bei $p_H = 5{,}30$.

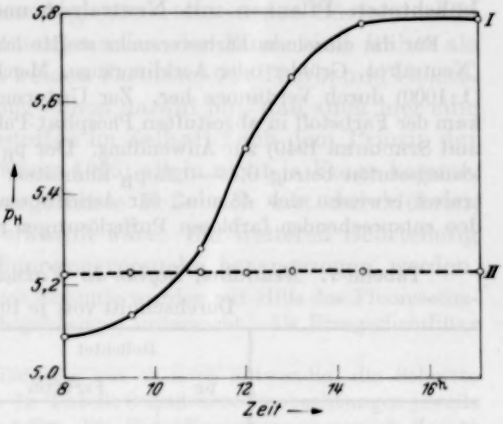


Abb. 3. p_H-Werte des Preßsaftes ausgewachsener grüner Blätter von *Sedum dendroideum* im Licht in Abhängigkeit von der Tageszeit = Kurve *I*. Kurve *II* = p_H-Werte des Preßsaftes aus den Blättern etiolierter Pflanzen bei Dunkelhaltung

Bei *Sedum* werden also die üblichen Unterschiede in der Wasserstoffionenkonzentration zwischen dem Zellsaft der etiolierten und dem der normalen Pflanze durch den starken täglichen Säurewechsel der grünen Pflanze verschleiert.

Wenn man von diesem Sonderfall absieht, kann man allgemein sagen, daß im Etiolement der Preßsaft zunächst immer schwächer sauer reagiert, was wahrscheinlich mit einer langsameren Alterung der Zellen zusammenhängt. Bei sehr überstreckten etiolierten Organen kann es jedoch zu einer so starken und andauernden Ansäuerung kommen, daß dann beim Preßsaft der etiolierten Pflanzen der p_H-Wert unter dem der normalen liegt.

4. Verhalten gegen Vitalfarbstoffe

Die elektrometrische p_H-Messung an Preßsäften liefert nur Durchschnittswerte. Daher wäre es noch interessant festzustellen, ob nicht p_H-Unterschiede zwischen den einzelnen Zellen eines Schnittes bestehen

und ob diese Unterschiede dann vielleicht in grünen und vergeilten Pflanzen verschieden stark ausgeprägt sind. Da stärker dissoziierte basische Vitalfarbstoffe in Abhängigkeit vom c_H-Gefälle Zellsaft-Außenmedium von der Zelle aufgenommen werden können (DRAWERT 1937 a, 1940, 1948 a, b, 1955, STRUGGER 1937, BARTELS 1954), lassen sich, wenn nicht andere Faktoren, auf die ich noch zu sprechen komme, stören, p_H-Unterschiede im Zellsaft von Einzelzellen auf diese Weise feststellen. Die Zellsaftfärbung beginnt um so weiter im sauren Bereich, je saurer der Zellsaft ist (vgl. OVERBECK, 1957). Es wurden deshalb Versuche an Schnitten von etiolierten und belichteten Pflanzen mit Neutralrot und Acridinorange durchgeführt.

Für die einzelnen Färbeversuche stellte ich täglich frisch die Farbstofflösung (Neutralrot, Grübler oder Acridinorange, Merck) 1:10000 aus einer Stammlösung (1:1000) durch Verdünnen her. Zur Untersuchung der p_H-abhängigen Färbung kam der Farbstoff in abgestuften Phosphat-Pufferlösungen (nach DRAWERT 1937 b und STRUGGER 1949) zur Anwendung. Der p_H-Unterschied zwischen zwei Pufferlösungsstufen betrug 0,15—0,25 p_H-Einheiten. Als günstigste Färbezeit für Neutralrot erwiesen sich 45 min., für Acridinorange 20 min. Zum Auswaschen mit den entsprechenden farblosen Pufferlösungen reichten einige Minuten (5—8) aus.

Tabelle 7. *Neutralrot, Beginn der Vakuolenfärbung an Querschnitten.* Durchschnitt von je 10 Versuchen

		Belichtet		Etioliert	
		pH	Farbton	pH	Farbton
Vicia					
Blatt	Epidermis	5,6	violett	5,8	schwach violett
	Mesophyll	6,8	rotorange	6,1	rot
Stengel	Epidermis	5,3—6,2	violett-rot	5,3—6,6	schwach violett-rot
	Rinde	5,7	rot (+ schwach Krümel)	5,5	rot (+ stark Krümel)
Sedum jung, mittags					
Blatt	Epidermis	5,2—6,1	violett-rot	5,2—5,6	schwach violett-rot
	Mesophyll	6,5	rotorange	6,2	orange
Stengel	Epidermis	5,6	violett	6,4	schwach violettrot
	Rinde	7,2	orange	6,2	rotorange
Zea					
Blatt	Epidermis	4,9	violett	5,5	violett
	Mesophyll	5,8	orangerot	5,4	tiefrot (+ Krümel)
Blatt-	Epidermis	5,0	violett	5,6	violettrot
scheide	Mesophyll	6,0	rot	5,5	tiefrot
Triticum					
Blatt	Epidermis	4,3	violett	4,8	violett (+ Krümel)
	Mesophyll	5,4	rot	3,8	violettrot
Blatt-	Epidermis	4,0	violett	4,5	schwach violett
scheide	Mesophyll	5,4	rot	5,2	rot
Avena					
Blatt	Epidermis	4,0	violett	3,7	tiefviolett
	Mesophyll	6,1	rot	5,8	tiefrot
Coleoptile	Epidermis	6,4	schwach rot	6,5	schwach rot
	Mesophyll	6,1	schwach rot	6,0	schwach rot

a) Neutralrot. In Tabelle 7 ist für die einzelnen Zellarten angegeben, ab welcher p_H-Stufe des Außenmediums die Vakuolenfärbung eintritt und welchen Farbton dann die Zelle besitzt. Es fällt auf, daß die Epidermiszellen sich allgemein mit violetter Tönung anfärben, und zwar die belichteten meist früher und kräftiger. Eine violette Färbung mit Neutralrot kann aber mit großer Wahrscheinlichkeit durch „volle" Zellsäfte (Höfler 1947) bedingt sein (Wiesner 1951, Toth 1952).

Außerdem zeigen aber die Mesophyll- und Rindenparenchymzellen bei etioliertem und normalem Gewebe Färbeunterschiede, die auf Grund der gefundenen p_H-Werte keineswegs erwartet werden dürften. Alle etiolierten Mesophyll- und Parenchymzellen der Rinde sind früher als die belichteten angefärbt; doch weisen Farbtöne wie Tiefrot und Violettrot und vor allem Krümelbildung schon darauf hin, daß auch hier eine einfache Speicherung des Farbstoffes im Zellsaft nach dem Prinzip der Ionenfalle (Höfler 1947, Drawert 1956) allein nicht in Frage kommt. Eine Bewertung der Versuchsergebnisse ließe sich erst durchführen, wenn das Speicherungsprinzip erkannt wäre. Zur weiteren Beurteilung sollen deshalb noch die Acridinorangeversuche herangezogen werden.

b) Acridinorange. Die angefärbten Schnitte wurden mit Hilfe des Fluorescenzmikroskopes von Leitz (mit Kohlebogenlampe) untersucht. Als Erregerlichtfilter diente UG1, als Okularfilter Sp2,5.

Vor den Versuchen mit Acridinorange war es noch notwendig, die Schnitte auf ihre Eigenfluorescenz zu prüfen. In Tabelle 8 sind diese Beobachtungen jeweils in Klammern jedem Wert vorangestellt. Die Eigenfluorescenz war nach Zusatz von Ammoniak meist noch vertieft.

Die Epidermis besitzt bis auf einige wenige Ausnahmen (Blattscheiden und Coleoptilen) eine ausgeprägte Eigenfluorescenz, möglicherweise auf Grund eines höheren Gehaltes an Phenolabkömmlingen. Bei *Vicia faba* jedenfalls geben Proben mit Kaliumbichromat eine positive Reaktion; daß Leguminosen stark gerbstoffhaltig sind, ist bekannt (Hanssen u. Dodt 1955). Bei den übrigen Epidermen sind aber mit den üblichen Gerbstoffreagentien ($FeCl_3$, $K_2Cr_2O_7$ und Coffein) keine positiven Ergebnisse zu erreichen.

Außer der tiefroten Fluorescenz des Chlorophylls zeigen das Rindenparenchym und das Mesophyll meist keine Eigenfluorescenz. Nur das etiolierte Blatt neigt zu einer schwachen grünen Fluorescenz. Im Stengel von *Vicia faba* geben etliche Rindenparenchymzellen eine positive Gerbstoffreaktion. Interessanterweise haben wir hier auch eine ausgeprägte Primärfluorescenz. Es fällt dabei auf, daß die gerbstoffhaltigen Zellen im belichteten Stengel mehr zur Epidermis hin liegen und nur wenige um den Zentralcylinder, während sie in der etiolierten Pflanze fast vorwiegend um den Zentralcylinder zu finden sind und außerdem in reichlicherer Menge vorkommen. Dementsprechend ist auch die Fluorescenz in dem vergeilten Stengel kräftiger.

Tabelle 8. *Acridinorange, Vakuolenfluorescenz an Querschnitten*
Durchschnitt von je 5 Versuchen

		Belichtet				Etioliert			
			mit Acridinorange[2]				mit Acridinorange[2]		
		Eigenfluoreszenz[1]	Dauerfluoreszenz	ab p_H	Fluoreszenz	Eigenfluoreszenz[1]	Dauerfluoreszenz	ab p_H	Fluoreszenz
Vicia									
Blatt	Epidermis	(+++)	+++	–	–	(+++)	+++	6,6	××
	Mesophyll	–	–	7,0	××	(++)	++	7,1	××
Stengel	Epidermis	(+++)	+++	–	–	(++)	+++	–	–
	Rinde	(+)	++	6,8	××	(++)	+++	7,3	××
Sedum jung, mittags									
Blatt	Epidermis	(+++)	+++	–	–	(++)	+++	–	–
	Mesophyll	–	–	7,1	××	–	–	6,8	××
Stengel	Epidermis	(+++)	+++	–	–	(+++)	+++	–	–
	Rinde	–	–	6,6	××	–	–	6,3	××
Zea									
Blatt	Epidermis	(+++)	+++	6,6	rKr	(++)	+++	5,2	rKr
	Mesophyll	–	–	5,8	××	(++)	+++	6,0	××
Blatt-	Epidermis	–	++	6,5	rKr	–	++	6,0	rKr
scheide	Mesophyll	–	++	6,8	××	–	++	5,8	××
Triticum									
Blatt	Epidermis	(++)	+++	–	–	(++)	+++	5,2	××
	Mesophyll	–	–	5,8	×	(++)	++	5,2	××
Blatt-	Epidermis	–	+++	–	–	–	+++	6,1	×
scheide	Mesophyll	–	+++	6,3	×	–	+++	6,1	×
Avena									
Blatt	Epidermis	(+++)	+++	–	–	(+++)	+++	–	–
	Mesophyll	–	–	6,1	×	(+++)	+++	6,3	×
Coleoptile	Epidermis	–	++	–	–	–	++	–	–
	Mesophyll	–	++	7,1	×	–	++	7,1	×

[1] Es bedeuten (+++) = hellgrüne, (++) = schwach hellgrüne und (+) = sehr schwach hellgrüne Eigenfluorescenz der ungefärbten Zellen.

[2] Es bedeuten +++ = grüne und ++ = schwach grüne Dauerfluorescenz und ×× = kupferrote und × = schwach rote p_H-abhängige Fluorescenz und rKr = rote Krümelbildung bei acridinorange gefärbten Zellen.

Ähnliches kann man beim *Sedum*-Stengel beobachten. Dort treten ebenfalls in größerer Zahl bestimmte Zellen auf, die sich im grünen Sproß mit Neutralrot immer tiefrot, im etiolierten immer weinrot anfärben, beim Kochen oder nach Coffeinzusatz sich rasch bräunen und aufquellen und eine dunkelgrüne Eigenfluorescenz besitzen. Noch ausgeprägter ist das vermehrte Vorkommen solcher Idioblasten im etiolierten Blatt. Man könnte daher vermuten, daß es in der etiolierten Pflanze, vielleicht auf Grund des andersartigen Stoffwechsels, zu einer Anhäufung sekundärer Pflanzenstoffe kommt. Das ist natürlich nur eine Annahme, die noch der weiteren Begründung bedarf.

Mit Acridinorange gefärbt, fluorescieren alle diejenigen Zellen kräftig, die schon vorher eine Primärfluoreszenz besaßen. Auch die meisten übrigen Zellarten beginnen jetzt eine schwache Fluorescenz zu zeigen; nur die Mesophyllzellen der grünen Blätter und der größte Teil der Rindenparenchymzellen bleiben dunkel. Nach HÖFLER (1947) weisen „volle" Zellsäfte mit Acridinorange eine weitgehend p_H-unabhängige Grünfluorescenz auf. Demzufolge liegen bei den untersuchten Pflanzen vorwiegend „volle" Zellsäfte vor, so daß Aussagen über den p_H-Wert des Zellsaftes nicht möglich sind.

Aus den Färbeversuchen kann man aber entnehmen, daß die Verteilung der „vollen" und „leeren" Zellen im etiolierten etwas anders als im normalen Zustand ist. Es scheint so, als ob im Licht die Stoffe, die den „vollen" Zellsaft bilden, mehr in der Epidermis auftreten, im Dunkeln dagegen vorwiegend im Parenchym anzutreffen sind, sei es im Mesophyll des Blattes, sei es im Stengel um den Zentralcylinder. Welche chemischen Verbindungen den „vollen" Zellsäften zugrunde liegen, soll hier nicht untersucht werden.

Außer der grünen Acridinorangefluorescenz kann bei schwächer saurem Medium auch noch eine Rotfluorescenz auftreten. So sind die Mesophyll- und Rindenparenchymzellen etiolierter Pflanzen ebenso wie die der normalen immer um den Neutralpunkt herum rot, meist richtig kupferrot gefärbt. Sogar etiolierte Epidermiszellen vermögen Acridinorange noch nach dem Prinzip der „leeren" Zellsäfte zu speichern. Es sind hier also, vor allem bei der etiolierten Pflanze, mehrere Speicherungsprinzipien in einer Zelle vereinigt. Gleiches berichtet OVERBECK (1957) von Mesophyllzellen bei *Bryophyllum*.

Die Farbstoffversuche mit Neutralrot und Acridinorange konnten also keine Bestätigung der p_H-Messungen erbringen, da die meisten Zellen der untersuchten Pflanzen „volle" Zellsäfte enthalten. Aus der Eigenfluorescenz und der Grünfluorescenz mit Acridinorange sowie der violetten Neutralrottönung in den Zellen läßt sich aber vermuten, daß die Verteilung der sekundären Pflanzenstoffe im Etiolement eine andere ist und daß möglicherweise auch quantitative Unterschiede zwischen grünen und vergeilten Pflanzen auftreten.

5. Harnstoffaufnahme

Die Literatur gibt über die Harnstoffaufnahme durch die etiolierte Zelle keine klare Auskunft. Im allgemeinen scheint die Aufnahmegeschwindigkeit im Dauerdunkeln herabgesetzt zu sein, so beim vergeilten *Vicia*-Keimling (PRIESTLEY 1926), beim Blatt von *Sedum* (FÜRLINGER 1938, DRAWERT 1948a) und von *Bryophyllum* (DRAWERT). Für das etiolierte Blatt von *Helodea* (JÄRVENKYLÄ 1937) und von *Triticum* (DRAWERT) werden dagegen höhere Aufnahmegeschwindigkeiten

angegeben. Da *Triticum* auch umgekehrte p_H-Unterschiede im Etiolement zeigt, nimmt DRAWERT (1948a) an, daß das c_H-Gefälle Zellsaft-Außenmedium bei der Harnstoffaufnahme ebenfalls eine Rolle spielt. FÜRLINGER (1938) macht dagegen eine unterschiedliche Durchlässigkeit des Plasmas dafür verantwortlich.

Eine Bestimmung der Harnstoffaufnahme an etiolierten Zellen bereitet methodisch einige Schwierigkeiten. Die plasmometrische Methode nach HÖFLER (1918) kommt, wie schon bei der Bestimmung des osmotischen Wertes ausgeführt worden ist, nicht in Frage. Ich versuchte daher, mit Hilfe der Deplasmolysezeiten eine Auskunft über die Harnstoffaufnahme durch die etiolierte Zelle zu erhalten.

In 1 Mol Harnstoff plasmolysierten die Zellen sehr stark, vor allem die etiolierte Zelle zeigte dabei ausgeprägte Krampfplasmolyse. Aus den erhaltenen Ergebnissen ließ sich ersehen, daß das grüne Blatt von *Vicia faba* und vom Mais meist längere Deplasmolysezeiten, der grüne Stengel von *Vicia faba* dagegen kürzere benötigen als das etiolierte Gewebe. Viele etiolierte Zellen starben jedoch vor vollständiger Deplasmolyse ab.

Um die Zellen weniger zu schädigen, wurde auch eine Deplasmolyse in niedrigeren Harnstoffkonzentrationen versucht. Dabei mußte, wie aus dem ersten Abschnitt der Versuchsbeschreibungen (S. 462) hervorgeht, der verschiedene osmotische Wert der zu vergleichenden Zellen berücksichtigt werden. Es wurde daher jedes Mal zunächst der osmotische Wert plasmolytisch bestimmt und dann die Schnitte in Harnstofflösungen von der Konzentration: osmotischer Wert der Zelle + 0,2 Mol/V plasmolysiert. *Vicia faba* verhielt sich wie in den oben angeführten Versuchen, aber beim Maisblatt war keine Klarheit zu erzielen. Auch hier starben etliche etiolierte Zellen bei den langen Deplasmolysezeiten (1—3 Std.) ab, und vor allem waren die Deplasmolysezeiten einer Meßreihe sehr unterschiedlich.

TRÖNDLE (1910) hat zur Messung der Harnstoffaufnahme noch eine andere Methode vorgeschlagen u. zw. die Bestimmung des Permeabilitätskoeffizienten μ, den man nach der Formel $\mu = 1 - P/P_1$ erhält. In der Formel bedeutet: P = osmotischer Wert der Zellen, in Zuckerlösung bestimmt. P_1 = osmotischer Wert der Zellen, in Harnstofflösung bestimmt, und zwar nach $^3/_4$std. Plasmolyse in dieser Harnstofflösung. Je höher P_1 über P liegt, desto höher ist also auch μ. Demnach ist μ ein direkter Ausdruck der aufgenommenen Harnstoffmenge. Obwohl diese Methode jeweils zwei langwierige Messungen in Konzentrationsreihen von Zucker- und Harnstofflösungen erfordert, erschien sie mir als die einzig verläßliche, da die Schnitte eine Plasmolyse von $^3/_4$ Std. gut überstehen. Die in Tabelle 9 angegebenen Werte gelten also immer für $^3/_4$std. Plasmolyse, nur beim *Sedum*-Stengel mußte ich die Plasmolysezeit auf $^1/_4$ Std. verkürzen, da beide Zelltypen, sowohl die etiolierten als auch die belichteten, hochpermeabel für Harnstoff waren.

Entsprechend den meisten Literaturangaben ist auch bei den von mir untersuchten etiolierten Pflanzen (s. Tabelle 9) die Harnstoffaufnahme im Vergleich zu den normalen herabgesetzt. Ausnahmen bilden die etiolierten Blätter von *Vicia faba*, vom Mais und vom Hafer. Daß die vergeilten *Vicia*-Blätter eine schnellere Harnstoffaufnahme zeigen, läßt sich vielleicht aus dem Größenunterschied der Zellen erklären. Die Blattzellen der etiolierten Pflanze sind bedeutend kleiner, sowohl in der

Tabelle 9. *Harnstoffaufnahme, als Permeabilitätskoeffizienten μ an Flächenschnitten bestimmt*

		Belichtet	Etioliert	Zahl der Versuche
Vicia	Blatt	$0{,}25 \pm 0{,}03$	$0{,}34 \pm 0{,}04$	15
	Stengel	$0{,}28 \pm 0{,}02$	$0{,}20 \pm 0{,}02$	15
Sedum, morgens	Blatt	$0{,}64 \pm 0{,}02$	$0{,}40 \pm 0{,}05$	15
	Stengel	$0{,}49 \pm 0{,}03$	$0{,}41 \pm 0{,}03$	15
Tradescantia	Blatt	$0{,}25 \pm 0{,}04$	$0{,}25 \pm 0{,}04$	15
Zea	Blatt	$0{,}45 \pm 0{,}03$	$0{,}48 \pm 0{,}02$	15
	Blattscheide	$0{,}45 \pm 0{,}03$	$0{,}42 \pm 0{,}03$	15
Avena	Blatt	$0{,}42 \pm 0{,}02$	$0{,}45 \pm 0{,}03$	20
Triticum	Blatt	$0{,}41 \pm 0{,}02$	$0{,}40 \pm 0{,}05$	20

Länge als auch in der Breite (s. Tabelle 1); sie besitzen also eine relativ große Oberfläche, durch die der Harnstoff aufgenommen werden kann (Ehrensberger 1954). Für die schwach erhöhte Aufnahme im etiolierten Mais- und Haferblatt kann aber keine Erklärung gefunden werden. Der große Unterschied in der Harnstoffaufnahme bei Blatt und Stengel von *Sedum* ist nur bei Messungen am Morgen zu erhalten; wird die Messung nachmittags durchgeführt, dann liegen die Unterschiede in Größenordnungen wie bei den übrigen Pflanzen (belichtet: Blatt $0{,}42 \pm 0{,}03$ und Stengel $0{,}44 \pm 0{,}02$, etioliert dagegen unverändert: Blatt 0,40 und Stengel 0,41, s. Tabelle 9). Die grüne Pflanze von *Sedum* zeigt also entsprechend den p_H-Schwankungen im Laufe des Tages auch eine Schwankung in der Harnstoffaufnahme. Dies stimmt mit Befunden von Drawert (1948a) und Alcer (1956) überein, die eine Abhängigkeit der Harnstoffaufnahme vom p_H-Wert des Zellsaftes feststellten.

Die in Tabelle 9 zusammengestellten Werte sind mit recht hohen Fehlern belastet. Es ist also aus diesen Versuchen nur mit einiger Vorsicht der Schluß zu ziehen, daß im allgemeinen die Harnstoffaufnahme im Etiolement herabgesetzt ist. Unterschiede im p_H-Wert des Zellsaftes können hier nicht, wie bei der tageszeitlichen Änderung der Harnstoffaufnahme von *Sedum*, dafür verantwortlich gemacht werden, da sie zu gering sind.

6. *Wasseraufnahme*

Wichtiger als die Aufnahme eines zellfremden Stoffes wie Harnstoff ist die Wasseraufnahme durch die lebende Zelle. Bisher scheint aber nur der kurzfristige Einfluß des Lichtes untersucht worden zu sein (Seemann 1950, Guttenberg u. Beythien 1951, Friedrichsen u. Engel 1953), und zwar soll das Licht die Wasserpermeabilität erhöhen.

Zur Bestimmung der Wasseraufnahme stellte ich die Deplasmolysezeit fest. Dazu plasmolysierte ich die Schnitte in Zuckerlösungen der Konzentration:

Tabelle 10. *Wasseraufnahme, Deplasmolysezeit in Min. an Flächenschnitten bestimm.*

		Belichtet	Etioliert	Zahl der Versuche
Vicia	Blatt	5,2 ± 0,1	5,0 ± 0,2	10
	Stengel	7,2 ± 0,3	4,9 ± 0,2	10
Sedum	Blatt	5,4 ± 0,1	5,5 ± 0,1	10
	Stengel	4,7 ± 0,1	5,3 ± 0,2	10
Zea	Blatt	7,4 ± 0,1	7,7 ± 0,2	10
	Blattscheide	7,5 ± 0,2	11,5 ± 0,3	10
Avena	Blatt	9,4 ± 0,2	15,2 ± 0,1	10
	Coleoptile	7,0 ± 0,2	11,5 ± 0,2	10
Triticum	Blatt	6,7 ± 0,2	7,9 ± 0,2	10
	Blattscheide	7,0 ± 0,3	11,5 ± 0,2	10

ermittelter osmotischer Wert der Zellen + 0,1 Vol. Mol. Die Schnitte waren dann nicht zu stark plasmolysiert und die Deplasmolysezeit entsprechend kurz. Nach einer Plasmolysezeit von $^3/_4$ Std. überzeugte ich mich zunächst an einem der Schnitte, ob alle Zellen plasmolysiert waren, und brachte dann die übrigen Schnitte zum Deplasmolysieren in eine Zuckerlösung der Konzentration: osmotischer Wert der Zelle — 0,1 Vol. Mol. Jede 1.—2. Min. wurde einer der Schnitte in derselben Lösung unter dem Deckglas mikroskopisch untersucht. Etiolierte und belichtete Zellen kamen wiederum nebeneinander zur Beobachtung, um jede Beeinflussung durch Temperaturänderungen und andere Umwelteinflüsse während des Aufenthaltes in den Zuckerlösungen zu vermeiden.

Nach Tabelle 10 scheint im allgemeinen die Wasseraufnahme der etiolierten Zellen geringer als die der belichteten zu sein. Nur *Vicia* bildet eine Ausnahme; für die Blattzellen gilt wieder dieselbe Erklärung wie für das abweichende Verhalten bei der Harnstoffaufnahme, für die andersartige Wasseraufnahme der Stengelzellen muß jedoch eine andere Ursache vorliegen. Bei der Beobachtung des gesamten Deplasmolyseablaufes einer Zelle unter dem Mikroskop fällt neben der schnellen kontinuierlichen Ausdehnung des Protoplasten manchmal eine ruckartig bis explosionsartig verlaufende Deplasmolyse auf. Oft ist dabei das Plasma sehr aufgequollen. Manche Zellen bleiben dann auch kurz vor der vollständigen Rückkehr des Plasmas zur Wand im Deplasmolysevorgang stecken. Alles dies spricht sehr für eine Schädigung der etiolierten Stengelzelle, wahrscheinlich schon während der Plasmolyse.

Abgesehen von diesen beiden Ausnahmen ist aber wohl im Etiolement die Wasseraufnahme durch die Zelle herabgesetzt.

7. *Wandhaftung*

Die Ursache für die andersartige Wasseraufnahme im Etiolement kann in einer veränderten Plasmabeschaffenheit liegen. Es wäre in diesem Zusammenhang wissenswert, ob das Plasma noch in anderer Beziehung abweichend reagiert. Ich hoffte daher, vielleicht eine

unterschiedliche Viskosität bei den etiolierten und bei den belichteten Pflanzen zu finden. Zu diesem Zweck ermittelte ich die Zeit bis zur Konvexplasmolyse (WEBER 1929, STRUGGER 1934).

In Zuckerlösungen der Konzentration: osmotischer Wert der Zelle + 0,1 Mol/V kamen jeweils mehrere Schnitte. In Abständen von 2—5 Min. wurde immer je ein Schnitt entnommen und, in derselben Zuckerlösung liegend, mikroskopisch untersucht.

Aus den erhaltenen Plasmolysezeiten (s. Tabelle 11) könnte geschlossen werden, daß die Plasmaviskosität durchweg im Etiolement erhöht ist; alle etiolierten Zellen zeigen eine mehr ausgeprägte Krampf-

Tabelle 11. *Wandhaftung, Plasmolysezeit in Min. an Flächenschnitten bestimmt*

		Belichtet	Etioliert	Zahl der Versuche
Vicia	Blatt	14 ± 1	16 ± 1	10
	Stengel	15 ± 1	22 ± 2	10
Sedum	Blatt	9 ± 2	13 ± 2	10
	Stengel	5 ± 1	8 ± 2	10
Zea	Blatt	75 ± 2	79 ± 3	10
	Blattscheide	35 ± 1	53 ± 3	10
Avena	Blatt	33 ± 4	42 ± 5	10
	Coleoptile	18 ± 2	26 ± 3	10
Triticum	Blatt	38 ± 3	80 ± 4	10
	Blattscheide	68 ± 5	73 ± 4	10

plasmolyse. Gleiches stellte FÜRLINGER (1938) mit derselben Methode für das vergeilte *Sedum*-Blatt fest. Ich möchte aber in Anbetracht der Warnungen einiger Autoren (HEYN 1934, BORRISS 1938, SCHAEFER 1954) etwas vorsichtiger mit der Beurteilung sein. Nach BORRISS kann neben der Viskosität des Plasmas auch die Dicke des Plasmaschlauches, die Größe der Zellen und die Porenweite der Membran die Plasmolysezeit bestimmen. Die größere Zellänge der etiolierten Pflanzenorgane mag auch hier die Zeiten verlängern, denn die längsten vergeilten Zellen z. B. *Vicia*-Stengel, *Zea*-Blattscheide, und *Triticum*-Blatt haben auch die am stärksten erhöhten Werte. Aber auch gleich große oder sogar kürzere Zellen des etiolierten Gewebes benötigen bis zur Konvexplasmolyse längere Zeit als normale.

Eine höhere Viskosität des vergeilten Plasmas kommt als Ursache wohl kaum in Frage; es fällt nämlich bei jedem Plasmolyseversuch die ausgesprochen kräftige Plasmaströmung in den etiolierten Zellen auf. Die stimulierende Wirkung der Plasmolyse auf die Plasmaströmung ist zwar öfters zu beobachten (STRUGGER 1949); ob die etiolierten Zellen außerdem noch durch Belichtung angereizt werden, konnte ich nicht mit Sicherheit feststellen. Zellen jedenfalls, die sofort nach der Entnahme

der Pflanzen aus dem Dunkelraum unter dem Mikroskop betrachtet wurden, zeigten auch schon eine höhere Strömungsgeschwindigkeit als die grünen.

Außerdem konnte ich bei den sehr dünnwandigen Zellen vom Mais und vom Hafer, vor allem vom Mesocotyl, bei jeder Plasmolyse in Saccharose zunächst eine starke Wellung der Wand beobachten, bevor sich der Protoplast überhaupt zu lösen begann. Diese Wellung war nur an lebenden Zellen zu sehen, nie an abgestorbenen. Die Durchlässigkeit der Membran allein kann also nicht dafür verantwortlich sein; bei diesem Vorgang muß das lebende Plasma die Durchlässigkeit der Zellwand verändern. Plasmolyse in Glucose gab ebenfalls das gleiche Bild.

Schaefer (1954) hält die Wandhaftung für einen der entscheidendsten Faktoren, die die Plasmolyseform und -zeit bestimmen. Da die von mir untersuchten Zellen trotz lebhafter Plasmaströmung nur äußerst langsam in die Konvexplasmolyse übergehen, möchte auch ich diese Verzögerung eher einer erhöhten Wandhaftung des Plasmas in den etiolierten Pflanzen zuschreiben.

8. Berührungs- und Schüttelreize

(Versuch einer Prüfung der Ergebnisse an künstlich im Etiolement gehemmten Pflanzen)

Aus den geschilderten Ergebnissen der zellphysiologischen Untersuchungen könnten einige Vorstellungen über das Wachstum der Pflanzen im Dunkeln abgeleitet werden: Die Wandhaftung ist stärker, die Wasser- und Harnstoffaufnahme gleichzeitig herabgesetzt. Die Verteilung der sekundären Pflanzenstoffe ist vermutlich eine andere als im normalen Gewebe. Die Ansäuerung des Zellsaftes (aktuelle Acidität) während des Alterungsprozesses geht langsamer vonstatten, und die Säuremenge (potentielle Acidität) ist erhöht. Es ist nun die Frage, ob diese Erscheinungen wirklich Ausdruck eines besonderen, für das Etiolement typischen Wachstums sind oder nur eine Folge der fehlenden Photosynthese. Die Auffassung, daß Etiolementswachstum und fehlende Assimilation nicht ursächlich gekoppelt sind, vertraten schon Godlewski (1879), Vöchting (1891), Trumpf (1924) und Bonner u. Went (1941).

Um die gefundenen Ergebnisse als reine Wachstumserscheinungen deuten zu können, müßte man Pflanzen mit unterschiedlichem Wachstum untersuchen, die sich nicht in der Assimilation unterscheiden. Es bestünde einmal die Möglichkeit, Pilze (Bünning u. Mitarb. 1950, Stiefel 1952) dazu zu verwenden, an denen aber die von mir gewählten zellphysiologischen Untersuchungen erheblich schwerer durchzuführen sind, oder Albinoformen höherer Pflanzen (Biebel 1942, Borthwick u. Mitarb. 1951), oder auch etiolierte Pflanzen, die dann durch irgendwelche Reize in ihrem für das Etiolement typischen Wachstum gehemmt werden.

Der letzte Weg ist meiner Meinung nach zum Nachprüfen der gefundenen Werte am geeignetsten. Bei den gleichen Pflanzen, die ich bis jetzt untersucht hatte, sollte durch mechanische Reize das Etiolement bei weiterer Anzucht im Dauerdunkeln aufgehoben und dann diese Pflanzen den bisherigen zellphysiologischen Untersuchungen unterzogen werden. Mit mechanischen Reizen gelang es Bünning (1948), das Längenwachstum der etiolierten Stengel von *Sinapis* und *Vicia* zu hemmen. Die Stengelzellen blieben kurz und entwickelten ähnlich

verdickte Wände wie im Licht. Den Beschreibungen von BÜNNING folgend, setzte ich deshalb die von mir untersuchten Pflanzen mechanischen Schüttel- und Berührungsreizen aus.

a) Berührungsreize. Zunächst wurden die Versuchspflanzen von einem mit Gummistücken gepolsterten Stab angeschlagen, der mit Hilfe einer Vibrationseinrichtung (nach KÜSTER 1954) in schnelle Schwingung versetzt war. Die Berührungsreize folgten also sehr rasch aufeinander (200 Stöße/min.). Pro Tag lief der Motor jeweils zwei Stunden. Die Versuche zogen sich immer über eine Woche hin.

In den meisten Fällen konnten Wachstumshemmungen erzielt werden, wobei sich die Pflanzen nur um 60% des Zuwachswertes der ungereizten Kontrollen verlängerten. Sie wiesen dabei aber immer große, sofort tiefgeschwärzte Druckstellen auf. In wenigen Fällen bildeten sich auch Verdickungen an dem Stengel, der jedoch bald glasig und schlapp wurde. Derart behandelte Pflanzen schienen daher kaum für die Nachprüfung meiner Ergebnisse geeignet zu sein. Vorversuche zeigten starke Anfälligkeit der Zellen gegen jeden zellphysiologischen Eingriff.

Weniger geschädigt wurden die Pflanzen, wenn sie von Fäden berührt wurden, die zwischen zwei Stäben elastisch gespannt waren. Die Stäbe wurden durch eine Schüttelmaschine bewegt (niedrigste Frequenz 100 Stöße/min.), und zwar pro Tag 6×2 min in Abständen von je 1 Stunde. Die Versuchsdauer betrug 5 Tage.

Die Druckstellen an den Stengeln waren jetzt schwächer. Die Pflanzen reagierten aber sehr unterschiedlich; einige, vor allem die, die an der Spitze des Stengels berührt wurden, stellten ihr Wachstum fast ganz ein; andere, meist die an basaleren Teilen gereizten, wuchsen dagegen sogar schneller als die ungereizten. Obwohl, im ganzen gesehen, die gereizten Pflanzen sich doch etwas langsamer streckten (2,12 cm/Tag statt 2,38 cm je Tag, Durchschnitt von je 30 Pflanzen, mittl. Fehler 0,25 cm/Tag), konnte ich wegen der Unregelmäßigkeit der individuellen Entwicklung keine eindeutig beeinflußten Individuen für die zellphysiologischen Experimente entnehmen. Ich gab deshalb diese Versuche auf und hoffte, gleichmäßigere und unschädlichere Hemmung der etiolierten Pflanzen mit Schüttelreizen zu bekommen.

b) Schüttelreize. Auf einem Schüttelapparat (150 Stöße/min) wurden die Pflanzen 3 Tage lang (pro Tag 6×1 min. in Abständen von 2 Std.) geschüttelt. Die Zahl der an einem Versuch beteiligten Pflanzen betrug 20—30. Die Längenmessungen fanden am Versuchsbeginn morgens, dann am Morgen des 2. und 3. Versuchstages und die letzte 2 Std. nach dem letzten Schütteln statt.

Für jede Pflanze konnte dann aus den abgelesenen Längen für die 3 Versuchstage eine Wachstumskurve aufgezeichnet werden. Da die Pflanzen nie alle gleich groß waren, war die Beurteilung der Kurven bequemer als die der einfachen Zuwachswerte.

Trotz mehrfacher Abwandelung der Experimente konnte hier niemals eine Wachstumshemmung erzielt werden. Alle untersuchten Pflanzen, *Vicia*, *Zea* und

Sinapis, wuchsen, gleichgültig, ob sie nun im jungen Stadium wenig oder im älteren mehr schwankten, immer ungefähr gleich schnell wie die ungereizten etiolierten oder selbst stärker (s. Tabelle 12a). Variationen der Versuchsdauer gaben ebenfalls keine anderen Ergebnisse (s. Tabelle 12b).

Daß Schüttelreize auch wachstumsfördernd wirken können, zeigten schon Versuche an Senfkeimlingen von COULT (1938). Vielleicht ließen sich hierauf die von DRAWERT (1936) an elektrisch gereizten Wurzeln gewonnenen Vorstellungen

Tabelle 12. *Durchschnittliche Wachstumsgeschwindigkeit in cm/Tag bei ungereizten und geschüttelten etiolierten Pflanzen*

a) Vergleich verschiedener Arten (Schütteldauer pro Tag: 6×1 Min. in Abständen von 2. Std.)

		Anfangsgröße der Pflanzen (cm)	Ungeschüttelt	Geschüttelt
Vicia	Epicotyl	2—4	2,74 ± 0,09	2,93 ± 0,09
		5—8	1,94 ± 0,08	2,12 ± 0,08
Zea	Mesocotyl	1—2	0,71 ± 0,07	0,90 ± 0,05
		4—5	0,72 ± 0,09	0,74 ± 0,09
Sinapis	Hypocotyl	2—3	1,85 ± 0,05	1,97 ± 0,06
		6—8	2,35 ± 0,07	2,43 ± 0,07

b) Abhängigkeit der Wachstumsgeschwindigkeit von der Versuchsdauer beim *Vicia*-Epicotyl

Schütteldauer pro Tag	Wachstumsgeschwindigkeit
1 × 2 Std.	3,10 ± 0,09
2 × 15 Min. im Abstand von 1 Std.	2,87 ± 0,10
1 × 15 Min.	2,93 ± 0,12
3 × 3 Min. in Abständen von 1 Std.	2,95 ± 0,10
3 × 3 Min. in Abständen von 10 Min.	3,05 ± 0,15
1 × 3 Min.	2,87 ± 0,11
3 × 1 Min. in Abständen von 1 Std.	2,74 ± 0,09
ungeschüttelt	2,76 ± 0,12

übertragen. Der eigentliche Reiz führt zwar zu einer Wachstumshemmung; im Restitutionsprozeß kann jedoch das Wachstum beschleunigt werden. In meinen Versuchen müßte demnach wohl im ganzen der stimulierende Einfluß des mechanischen Reizes überwiegen.

In den hier geschilderten Versuchen war es mir also nicht möglich, das für das Etiolement typische übernormale Längenwachstum in der gewünschten Weise durch mechanische Reize aufzuheben.

III. Besprechung der Ergebnisse

Morphologische Studien an etiolierten Pflanzen führen zu der Vorstellung, daß im Dunkeln jedes wachsende Organ sich langsamer als normal differenziert, zumindest länger in der Streckungsphase bleibt —

anatomische Differenzierungen sollen hier nicht berücksichtigt werden. Jede Zelle eines solchen Organs muß demnach auch langsamer altern; der Entwicklungsablauf, den jede Zelle durchmacht (Zellteilungsphase — Streckungsphase — Reifephase), muß dabei verlangsamt sein. Das Licht übt seinen formativen Einfluß auf die Pflanze durch eine Beschleunigung des Entwicklungsablaufes aus. Aus einigen zellphysiologischen Untersuchungen sind uns die protoplasmatischen Veränderungen in einer normalen Zelle während dieses Alterungsprozesses einigermaßen bekannt (s. BÜNNING 1953, S. 92—102). Es ist nun die Frage, wie das Licht in diese Vorgänge eingreift.

Die Zellen besitzen, sobald sie der meristematischen Zone entwachsen sind (dieser Schritt kann hier nicht diskutiert werden, obwohl auch er durch das Licht beschleunigt wird [AVERY u. Mitarb. 1937, BETH 1955]), zunächst einmal die Fähigkeit sich zu strecken. Gegenüber einer sich nicht mehr streckenden Zelle zeichnet sich die noch wachsende durch eine hohe Plasmaviskosität (STRUGGER 1934, RUGE 1937, 1940, BORRISS 1938, PIRSON u. SEIDEL 1950, REUTER 1953) und eine hohe Atmung aus (WANNER 1950, ELIASSON 1955, JENSEN 1955). Außerdem geht mit dem Streckungsvorgang der pflanzlichen Zelle eine allmähliche Verringerung des osmotischen Wertes (RUGE 1937, PIRSON u. SEIDEL 1950, REUTER 1953, POHL 1954) und eine Ansäuerung des Zellsaftes parallel (GUNDEL 1933, RUGE 1937, BÜNNING 1953).

Nach STRUGGER (1934) soll eine Änderung der Wasserstoffionenkonzentration im Zellsaft die Primärursache des Streckungswachstums sein. Aus meinen Versuchen möchte ich aber schließen, daß hohe Acidität nicht die Streckung induzieren kann. Die Ansäuerung des Zellsaftes scheint vielmehr ein Ausdruck für den Alterungsprozeß jeder Zelle zu sein. Im Etiolement geht die Ansäuerung langsamer vor sich; das Licht muß also wohl den Alterungsprozeß vorantreiben, wobei nicht diskutiert werden soll, ob das Licht direkt auf die Zelle wirkt oder erst über irgendwelche wanderungsfähigen Stoffe. Daß wiederum ein bestimmter p_H-Wert die Streckungsphase nicht beendet, zeigen die übersäuerten Zellsäfte abnorm langer etiolierter Organe.

Auffällig ist die hohe Wandhaftung des etiolierten Protoplasten. Aus kurzfristigen Versuchen (TAKAMINE 1940, VIRGIN 1951, 1954) ist ein die Viskosität erniedrigender Einfluß des Lichtes bekannt. Möglicherweise wirkt das Licht entwicklungsbeschleunigend, indem es die Loslösung des Protoplasten von der Wand erleichtert. Das Lockern der Plasmodesmen könnte dann vielleicht die Inkrustation (RUGE 1938) und damit das Starrwerden der Wand begünstigen. PRIESTLEY (1926), der ebenfalls eine hohe Wandhaftung des Plasmas bei etiolierten Pflanzen beobachtete, glaubte sogar, eine andersartige Ablagerung von Fetten

und Proteinen annehmen zu müssen, weil er eine geringere Aufnahme an Wasser und Kohlenhydraten im Etiolement feststellte. Andererseits soll elektronenoptisch die submikroskopische Struktur der etiolierten Zellwand keine Unterschiede zur normalen aufweisen (WILLIAMS u. Mitarb. 1955). Ich möchte daher eher in einem veränderten Plasmazustand die Ursache für die auch von mir gefundene herabgesetzte Wasser- und Harnstoffaufnahme im Etiolement sehen. Licht soll schon in kurzer Zeit das Plasma so verändern, daß die Harnstoffaufnahme erhöht ist (JÄRVENKYLÄ 1937).

Nach CHOLODNY (1931) und RUGE (1937) kann auch die Richtung bestimmter Gradienten in der Pflanze, die entweder stofflicher oder elektrischer Natur sein sollen, die Streckungsrichtung im Organ bestimmen. Das Licht könnte diese Richtung und damit die stoffliche Verteilung verändern. Vielleicht ist die von mir beobachtete, vom Normalen abweichende Verteilung der sekundären Pflanzenstoffe auf solche Erscheinungen zurückzuführen.

Dagegen ist die Änderung des osmotischen Wertes anscheinend — unabhängig vom Licht — allein eine Folge der Streckung. Je stärker ein Organ und damit jede seiner Zellen sich strecken, desto mehr sinkt der osmotische Wert. Umgekehrt ist die hohe Säuremenge der etiolierten Zellsäfte wohl nur als Ausdruck der fehlenden Assimilation, unabhängig vom Streckungswachstum, zu werten.

An Hand der Ergebnisse könnte zusammenfassend folgende Hypothese für den Lichteinfluß auf das Wachstum vorgeschlagen werden: Jede pflanzliche Zelle ändert sich langsam beim Alterungsprozeß. Das Licht kann nun durch irgendwelche Veränderung des protoplasmatischen Zustandes (VAN DE SANDE-BAKHUYSEN 1928, STRUGGER 1934, DU BUY u. NUERNBERGK 1935, BÜNNING 1949, FISCHER 1950) das Altern beschleunigen. Das veränderte Plasma besitzt eine lockere Bindung zur Wand, was eine leichtere Inkrustation der Membran nach sich ziehen könnte. Dabei wird dann die im Etiolement übernormale Streckung der Stengel und der Gramineen-Blätter verringert. Gleichzeitig wird das durch Licht veränderte Plasma durchlässiger für Wasser und andere Stoffe. Die Bedeutung des Lichtes für das Spreitenwachstum des Blattes dagegen muß auf jeden Fall noch anderer Natur sein. Ohne Licht vermag die Blattspreite sich trotz langsamer Alterung nicht zu den normalen Ausmaßen zu entwickeln.

Worin aber der Alterungsvorgang des Protoplasmas besteht und ob er wirklich so gleichförmig verläuft, wie es der Ansäuerung des Zellsaftes nach der Fall zu sein scheint, müßten noch weitere Untersuchungen klären. Der Vergleich von etiolierten und belichteten Zellen könnte dabei sicherlich weiterhin gute Dienste leisten.

Zusammenfassung

Einige mono- und dicotyle Pflanzen wurden 10—25 Tage lang im Dauerdunkeln bei konstanter Temperatur und Feuchtigkeit gezogen, während die Kontrollen unter 18 Std. künstlicher Belichtung/Tag bei sonst gleichen Außenbedingungen wuchsen.

Vicia faba zeigte unter diesen Bedingungen wie die meisten etiolierten Dicotylen einen übernormal verlängerten Stengel und unentwickelte Blätter. Ähnlich verhielten sich auch *Sedum dendroideum* und die Monocotyle *Tradescantia fluminensis*. Die etiolierten Gramineen *Zea mays*, *Avena sativa*, *Triticum spelta* und *Hordeum vulgare* entwickelten dagegen neben längeren Stengelgliedern öfter auch, aber nicht immer, längere Blätter. Als allgemeines Vergeilungsprinzip wird eine Verzögerung des Überganges in die einzelnen Entwicklungsstufen eines Organs erkannt.

Plasmolytische und kryoskopische Bestimmungen ergaben, daß der osmotische Wert bei solchen etiolierten Pflanzenorganen, die ein verringertes Wachstum aufweisen, erhöht ist und bei denjenigen, die sich mehr oder weniger verlängert haben, erniedrigt erscheint. Die plasmolytisch gewonnenen Werte liegen in den meisten Fällen über den kryoskopischen.

Alle etiolierten Pflanzen wiesen im Vergleich mit den entsprechenden grünen eine höhere potentielle Acidität auf, während die aktuelle Acidität bei den meisten niedriger ist. Nur bei sehr stark anomal verlängerten Organen, wie dem Gramineen-Mesocotyl, scheinen auch höhere c_H-Werte aufzutreten. Die allgemein im Entwicklungsablauf einer Zelle bzw. eines Organs vorkommende Ansäuerung des Zellsaftes ist bei den etiolierten Pflanzen, wie genauere Untersuchungen an *Vicia faba* zeigten, verzögert. Bei *Sedum* lagen die p_H-Werte der etiolierten Pflanze nur über dem Morgenwert der normalen, aber entsprechend dem starken täglichen Säurewechsel der Succulenten unter dem Abendwert; der p_H-Wert der etiolierten Pflanze war konstant.

Eigenfluorescenz und Grünfluorescenz mit Acridinorange sowie die Ergebnisse einer Neutralrotfärbung deuten darauf hin, daß im Etiolement einige sekundäre Pflanzenstoffe mehr zentral im Organ angeordnet sind als in der normalen Pflanze.

Die Harnstoffaufnahme scheint in der etiolierten Zelle allgemein herabgesetzt zu sein. Nur für die etiolierten Blätter von *Vicia faba*, *Zea mays* und *Avena sativa* ergaben sich höhere Werte. Die erhöhte Aufnahmegeschwindigkeit ließ sich zum Teil auf die relativ große Oberfläche der etiolierten Blattzellen zurückführen.

In gleicher Weise wie die Harnstoffaufnahme erschien auch die Wasseraufnahme verringert. *Vicia faba* fällt wieder durch sein

entgegengesetztes Verhalten auf; der Stengel scheint durch den Plasmolysevorgang geschädigt zu werden.

Plasmolyseversuche zeigten ganz allgemein, daß der Protoplast der etiolierten Pflanze nur äußerst langsam in die Konvexplasmolyse übergeht. Da lebhafte Plasmaströmung beobachtet wurde und zum Teil Wellung der sehr dünnen Membran auftrat, wird diese Erscheinung nicht auf eine höhere Plasmaviskosität, sondern auf eine höhere Wandhaftung des Plasmas im Etiolement zurückgeführt.

Zur Prüfung der gefundenen Ergebnisse wurde versucht, durch mechanische Schüttel- und Berührungsreize das übernormale Streckungswachstum der vergeilten Pflanzen aufzuheben. Berührungsreize verzögerten zwar gelegentlich das Wachstum der etiolierten *Vicia faba*-Keimlinge, der Effekt war aber äußerst unregelmäßig und die Pflanzen zeigten Schädigungen. Schüttelreize hatten sogar einen entgegengesetzten Erfolg; die Pflanzen wurden etwas länger als die ungereizten.

Herrn Prof. Dr. H. Drawert danke ich für die Anregung der Arbeit. Ferner bin ich Herrn Dr. H.-J. Küster für Hinweise zu Dank verpflichtet.

Literatur

Åberg, B.: Physiologische und ökologische Studien über die pflanzliche Photomorphose. Symbolae bot. Upsalienses **8**, Nr 1 (1943). — Alcer, G.: Die Aufnahme von Harnstoff und Glycerin in Abhängigkeit von der Azidität der Außenlösung und des Zellsaftes. Protoplasma (Wien) **47**, 77 (1956). — Araki, T.: Physiologisch-anatomische Untersuchungen über die Wachstumsverhältnisse des Mesocotyls von Gramineen im Dunkeln und bei Belichtung. Jap. J. of Bot. **10**, 69 (1939). — Avery, G. S., P. R. Burkholder and H. B. Creighton: Polarized growth and cell studies in the first internode and coleoptile of Avena in relation to light and darkness. Bot. Gaz. **99**, 125 (1937). — Bartels, P.: Quantitative mikrospektroskopische Untersuchungen der Speicherungs- und Permeabilitätsverhältnisse acridinorangegefärbter Zellen. Planta (Berl.) **44**, 341 (1954). — Benecke, W., u. L. Jost: Pflanzenphysiologie, Bd. II. Jena 1923. — Beth, K.: Unterschiedliche Beeinflussung von Wachstum und Teilung durch Veränderung von Licht und Temperatur. Z. Naturforsch. **10**b, 276 (1955). — Beyrer, H.: Beobachtungen über das Etiolement bei Wasserpflanzen. Bot. Zbl. **123**, 613 (1913). — Biebel, J. B.: Some effects of radient energy in relation to etiolation. Plant Physiol. **17**, 377 (1942). — Bogen, H. J.: Untersuchungen zu den „spezifischen Permeabilitätsreihen" Höflers. II. Harnstoff und Glycerin. Planta (Berl.) **28**, 535 (1938). — Bogen, H. J., u. G. Follmann: Osmotische und nichtosmotische Stoffaufnahme bei Diatomeen. (Untersuchungen über die „spezifische Permeabilität" der Diatomeen.) Planta (Berl.) **45**, 125 (1955). — Bonner, D., and F. W. Went: The tomato test for factors limiting the growth of leaves and of stems. Amer. J. Bot. **28**, 115 (1941). — Borriss, H.: Über den Einfluß äußerer Faktoren auf das Wachstum und Entwicklung der Fruchtkörper von Coprinus lagopus. Planta (Berl.) **22**, 644 (1934). — Plasmolyseform und Streckungswachstum. Jb. Bot. **86**, 784 (1938). — Borthwick, H. A., S. B. Hendricks and M. W. Parker: Action spectrum for inhibition of stem growth in dark grown seedlings of albino and nonalbino Barley (Hordeum vulgare). Bot. Gaz. **113**, 95 (1951). — Borthwick, H. A., S. B.

HENDRICKS, M. W. PARKER, E. H. TOOLE and V. K. TOOLE: A reversible photoreaction controlling seed germination. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. **38**, 662 (1952). — BRAUNER, L., u. M. HASMAN: Weitere Untersuchungen über den Wirkungsmechanismus des Heteroauxins bei der Wasseraufnahme von Pflanzenparenchym. Protoplasma (Wien) **41**, 302 (1952). — BROTHERTON, W. J., and H. H. BARTLETT: Cell measurement as an aid in the analysis of quantitative variation. Amer. J. Bot. **5**, 192 (1918). — BÜNNING, E.: Über die Verhinderung des Etiolements. Ber. dtsch. bot. Ges. **59**, 2 (1941). — Über quellbare Zellsaftkolloide in Iris-Blättern. Planta (Berl.) **37**, 431 (1949). — Entwicklungs- und Bewegungsphysiologie der Pflanze, 3. Aufl. Berlin 1953. — BÜNNING, E., M. GRÖNER u. S. STIEFEL: Über Refraktärstadien bei formativer Beeinflussung von Coprinus-Fruchtkörpern durch Licht- und Schüttelreize. Ber. dtsch. bot. Ges. **63**, 158 (1950). — BÜNNING, E., u. L. HAAG-PFAFFENHÖFER: Die vermittelnde Rolle von Erregungsvorgängen bei der formativen Wirkung des Lichtes auf Pflanzen. Naturwiss. **34**, 58 (1947). — BÜNNING, E., L. HAAG-PFAFFENHÖFER u. G. TIMMERMANN: Weitere Untersuchungen über die formative Wirkung des Lichtes und mechanischer Reize auf Pflanzen. Planta (Berl.) **36**, 178 (1948). — BURKHOLDER, P. R.: The role of light in the life of plants. I. u. II. Bot. Review **2**, 1, 97 (1936). — BUY, DU H. G., u. E. L. NUERNBERGK: Phototropismus und Wachstum der Pflanzen. III. Erg. Biol. **12**, 325 (1935). — CHIBNALL, A. C., and C. E. GROVER: A chemical study of leaf cell protoplasm. I. The soluble proteins. Biochemic. J. **20**, 108 (1926). — CHOLODNY, N.: Verwundung, Wachstum und Tropismus. Planta (Berl.) **13**, 665 (1931). — COULT, D. A.: Some Observations on the effects of shading on plants with particular reference to Sinapis alba L. Protoplasma (Berl.) **32**, 92 (1938). — DOWNS, R. J.: Photoreversibility of leaf and hypocotyl elongation of dark grown red Kidney bean seedlings. Plant Physiol. **30**, 468 (1955). — DRAWERT, H.: Untersuchungen über den Erregungs- und Erholungsvorgang in pflanzlichen Geweben nach elektrischer und mechanischer Reizung. Planta (Berl.) **26**, 391 (1936). — Der Einfluß anorganischer Salze auf die Aufnahme und Abgabe von Farbstoffen durch die pflanzliche Zelle. Ber. dtsch. bot. Ges. **55**, 380 (1937a). — Das Verhalten der einzelnen Zellbestandteile fixierter pflanzlicher Gewebe gegen saure und basische Farbstoffe bei verschiedener Wasserstoffionenkonzentration. Flora (Jena) **132**, 91 (1937b). — Zur Frage der Stoffaufnahme durch die pflanzliche Zelle. III. Die Aufnahme basischer Farbstoffe und das Permeabilitätsproblem. Flora (Jena) **134**, 159 (1940). — IV. Der Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration des Zellsaftes auf die Harnstoffaufnahme. Planta (Berl.) **35**, 579 (1948a). — V. Zur Theorie der Aufnahme basischer Farbstoffe. Z. Naturforsch. **3**b, 111 (1948b). — Der p_H-Wert des Zellsaftes. In W. RUHLAND, Handbuch der Pflanzenphysiologie, Bd. I. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1955. — Die Aufnahme der Farbstoffe. Vitalfärbung. In W. RUHLAND, Handbuch der Pflanzenphysiologie, Bd. II. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1956. — EATON, F. M., and D. R. ERGLE: Effects of shade and partial defoliation on carbohydrat levels and the growth, fruiting and fiber properties of cotton plants. Plant Physiol. **29**, 39 (1954). — EHRENSBERGER, R.: Osmotischer Wert und Permeabilität der Zellen polyploider Reihen bei Blütenpflanzen. Z. Naturforsch. **3**b, 120 (1948). — ELIASSON, L.: The connection between the respiratory gradient and the growth rate in wheat roots. Physiol. Plantarum (Copenh.) **8**, 374 (1955). — FISCHER, H.: Über die protoplasmatischen Veränderungen beim Altern von Pflanzenzellen. Protoplasma (Wien) **39**, 661 (1950). — FRIEDRICHSEN, J., u. H. ENGEL: Lichtguttationsreaktion und Turgordehnung. Ber. dtsch. bot. Ges. **66**, 9 (1953). — FÜRLINGER, H.: Harnstoff-Permeabilität der Epidermis etiolierter und ergrünter Blätter. Protoplasma (Berl.) **31**, 277 (1938). — GALSTON, A. W., and R. BAKER:

Studies on the physiology of light action. IV. Light enhancement of auxin-induced growth in green peas. Plant Physiol. **26**, 311 (1951). — GODLEWSKI, E.: Zur Kenntnis der Ursachen der Formänderung etiolierter Pflanzen. Bot. Ztg **37**, 137 (1879). — GOODWIN, R. H.: On the development of xylary elements in the first internode of Avena in dark and light. Amer. J. Bot. **29**, 818 (1942). — GOODWIN, R. H., and O. v. H. OWENS: An action spectrum for inhibition of the first internode of Avena by light. Bull. Torrey Bot. Club **75**, 18 (1948). — The effectiveness of the spectrum in Avena internode inhibition. Bull. Torrey Bot. Club **78**, 11 (1951). — GUNDEL, W.: Chemische und physikalisch-chemische Vorgänge bei geischer Induktion. Jb. wiss. Bot. **78**, 623 (1933). — GUSTAFSON, F. G.: Total acidity compared with actual acidity of plant juice. Amer. J. Bot. **11**, 365 (1924). — Diurnal changes in the acidity of Bryophyllum calycinum. J. Gen. Physiol. **7**, 719 (1925). — GUTTENBERG, H. v., u. A. BEYTHIEN: Über den Einfluß von Wirkstoffen auf die Wasserpermeabilität des Protoplasmas. Planta (Berl.) **40**, 36 (1951). — HAAS, A. R.: Studies on the reaction of plant juices. Soil Sci. **9**, 341 (1920). Zit. nach GUSTAFSON 1924. — HANSSEN, E., u. E. DODT: Untersuchungen über die Eigenfluoreszenz bei Leguminosen. Naturwiss. **42**, 76 (1955). — HEYN, A. N. J.: Weitere Untersuchungen über den Mechanismus der Zellstreckung und die Eigenschaften der Zellmembran. III. Die Änderungen der Plastizität der Zellwand bei verschiedenen Organen. Jb. wiss. Bot. **79**, 753 (1934). — HÖFLER, K.: Permeabilitätsbestimmung nach der plasmometrischen Methode. Ber. dtsch. bot. Ges. **36**, 414 (1918). — Was lehrt die Fluoreszenzmikroskopie von der Plasmapermeabilität und Stoffspeicherung! Mikroskopie (Wien) **2**, 13 (1947). — HURD-KARRER, A. M.: Hydrogen-ion concentration of leaf juice in relation to environment and plant species. Amer. J. Bot. **26**, 894 (1939). — JÄRVENKYLÄ, Y. T.: Über den Einfluß des Lichtes auf die Permeabilität pflanzlicher Protoplasten. Ann. bot. Soc. zool. bot. fenn. „Vanamo" **9**, 1 (1937). — JENSEN, W. A.: The histochemical localisation of peroxydase in roots and its induction by indoleacetic acid. Plant Physiol. **30**, 426 (1955). — KAUFMANN, S.: Beiträge zur Kenntnis des Etiolements. Diss. naturwiss. Fak. Frankfurt a. M. 1924. — KOLDA, A.: Zur Anatomie etiolierter und periodisch belichteter Pflanzen und über die Wirkung nachträglicher Kultur am Licht. Beih. bot. Zbl., Abt. A **57**, 319 (1937). — KRAUS, G.: Über die Ursache der Formveränderung etiolierter Pflanzen. Jb. wiss. Bot. **7**, 209 (1869). — Über den täglichen Stoffwechsel im Zellsaft. Sitzgsber. Naturforsch. Ges. Halle 1882. — Über die Wasservertheilung in der Pflanze. IV. Die Azidität des Zellsaftes. Sitzgsber. Naturforsch. Ges. Halle 1884. — KÜHLHORN, F.: Beiträge zur Kenntnis des Etiolements. Diss. Göttingen 1904. — KÜSTER, E.: Pathologische Pflanzenanatomie, 3. Aufl. Jena 1925. — KÜSTER, H. J.: Ein einfacher Vibrationsrührer für physiologische Arbeiten. Ber. dtsch. bot. Ges. **67**, 365 (1954). — LAIBACH, F.: Wuchsstoffbildung mit Kohlehydratstoffwechsel (Versuche mit Gurkenkeimlingen). Ber. dtsch. bot. Ges. **59**, 257 (1941). — OPPENHEIMER, H. R.: Über die Zulässigkeit und Anwendungsgrenzen der üblichen Methoden zur Bestimmung der osmotischen Konzentration pflanzlicher Zellsäfte. Planta (Berl.) **16**, 467 (1932). — OVERBECK, G.: Zellphysiologische Studien an Bryophyllum im Zusammenhang mit dem täglichen Säurewechsel. Protoplasma (Wien.) **48**, 241 (1957). — OVERBEEK, J. VAN: Growth hormone and mesocotyl growth. Rec. Trav. bot. neérl. **33**, 333 (1936). — PARKER, M. W., S. B. HENDRICKS, H. A. BORTHWICK and F. W. WENT: Spectral sensitivities for leaf and stem growth of etiolated pea seedlings and their similarity to action spectra for photoperiodism. Amer. J. Bot. **36**, 194 (1949). — PFEIFFER, N. E.: Microchemical and morphological studies of effect of light on plants. Bot. Gaz. **81**, 173 (1926). — PIRSON, A., u. F. SEIDEL: Zell- und stoffwechselphysiologische Untersuchungen an der Wurzel von Lemna minor L. unter

besonderer Berücksichtigung von K- und Ca-Mangel. Planta (Berl.) **38**, 431 (1950). — Pohl, R.: 25 Jahre Wuchsstofforschung, eine kritische Betrachtung des augenblicklichen Standes der Wuchsstofforschung. Naturwiss. **41**, 392 (1954). — Priestley, J. H.: Light and growth II. On the anatomy of etiolated plants. New Phytologist **25**, 145 (1926). — Reinert, J.: Über die Bedeutung von Carotin und Riboflavin für die Lichtreizaufnahme bei Pflanzen. Naturwiss. **39**, 47 (1952). — Reuter, L.: A contribution to the cell-physiologic analysis of growth and morphologenesis in fern prothallia. Protoplasma (Wien) **42**, 1 (1953). — Ruge, U.: Untersuchungen über den Einfluß des Hetero-Auxins auf das Streckungswachstum des Hypocotyls von Helianthus annuus. Z. Bot. **31**, 1 (1937). — Über einige Alterungserscheinungen in der Intermizellarsubstanz junger, streckungsfähiger Membranen. Planta (Berl.) **27**, 436 (1938). — Kritische zell- und entwicklungsphysiologische Untersuchungen an den Blattzähnen von Helodea densa. Flora (Jena) **134**, 311 (1940). Anzucht von Pflanzen bei ausschließlich künstlicher Beleuchtung. Z. Bot. **42**, 31 (1954). — Sachs, J.: Über den Einfluß des Tageslichtes auf Neubildung und Entfaltung verschiedener Pflanzenorgane. Bot. Ztg **21**, 1 (1863). — Sande-Bakhuysen, H. L. van de: Studies upon wheat grown under constant conditions. Plant Physiol. **3**, 7 (1928). — Schaefer, G.: Ein Versuch zur quantitativen Auswertung der Plasmolyseform- und -zeitmethode. Protoplasma (Wien) **44**, 422 (1954). — Schneider, C. L.: The effect of red light on growth of the Avena seedling with special reference to the first internode. Amer. J. Bot. **28**, 871 (1941). — Seemann, F.: Der Einfluß der Wärme und UV-Bestrahlung auf die Wasserpermeabilität des Protoplasmas. Protoplasma (Wien) **39**, 535 (1950). — Stafford, A. H.: Studies on the growth and xylary development of Phleum pratense seedlings in darkness and in light. Amer. J. Bot. **35**, 706 (1948). — Stiefel, S.: Über Erregungsvorschläge bei der Einwirkung von photischen und mechanischen Reizen auf Coprinus-Fruchtkörper. Planta (Berl.) **40**, 301 (1952). — Stiles, W.: Permeability. New Phytologist, Reprint Nr 13. London 1924. — Strugger, S.: Beiträge zur Physiologie des Wachstums. I. Zur protoplasmaphysiologischen Kausalanalyse des Streckungswachstums. Jb. wiss. Bot. **79**, 406 (1934). — Die Vitalfärbung als gewebeanalytische Untersuchungsmethode. Arch. exper. Zellforsch. **19**, 199 (1937). — Praktikum der Zell- und Gewebephysiologie der Pflanze. Berlin 1949. — Studener, O.: Über die elektroosmotische Komponente des Turgors und über chemische und Konzentrationspotentiale pflanzlicher Zeilen. Planta (Berl.) **35**, 427 (1948). — Takamine, N.: On the plasmolysis form on Allium cepa with special reference of Potassium (K^+) ion of it. Cytologia (Tokyo) **10**, 302 (1940). Thomson, B. F.: The relation between age and time of exposure and response of parts of the Avena seedling to light. Amer. J. Bot. **38**, 635 (1951). — The effect of light on cell division and cell elongation in seedlings of oats and peas. Amer. J. Bot. **41**, 326 (1954). — Torrey, J. G.: Effects of light on elongation and branching in pea roots. Plant Physiol. **27**, 591 (1952). — Toth, A.: Neutralrotfärbung im Fluoreszenzlicht. Protoplasma (Wien) **41**, 103 (1952). — Tröndle, A.: Der Einfluß des Lichtes auf die Permeabilität der Plasmahaut. Jb. wiss. Bot. **48**, 385 (1910). — Trumpf, C.: Über den Einfluß intermittierender Beleuchtung auf das Etiolement der Pflanzen. Bot. Archiv **5**, 381 (1924). — Vickery, H. B.: The formation of starch in leaves of Bryophyllum calycinum cultured in darkness. Plant Physiol. **27**, 231 (1952). — Virgin, H. J.: The effect of light on the protoplasmic viscosity. Physiol. Plantarum (Copenh.) **4**, 255 (1951). — Further studies of the action spectrum for light-induced changes in the protoplasmic viscosity of Helodea densa. Physiol. Plantarum (Copenh.) **7**, 343 (1954). — Vöchting, H.: Über die Abhängigkeit des Laubblattes von seiner Assimilationsthätigkeit. Bot. Ztg **49**, 113, 129 (1891). — Wanner, H.: Histologische und physiologische Gra-

dienten in der Wurzelspitze. Ber. schweiz. bot. Ges. **60**, 404 (1950). — Wassink, E. C., and J. A. J. Stolwijk: Effects of light of narrow spectral regions on growth and development of plants I u. II. Proc. Kon. Ned. Akad. v. Wetensch. **55**, 471 (1952). — Weber, F.: Plasmolysezeit und Lichtwirkung. Protoplasma (Berl.) **7**, 256 (1929). — Weintraub, R. L., and E. D. McAlister: Development physiology of grass seedling I. Inhibition of the mesocotyl of Avena sativa by continuous exposure to light of low intensities. Smith. Misc. Coll. **101**, No 17 (1942). — Weintraub, R. L., and L. Price: Inhibition of mesocotyl elongation in various grasses by red and by violet light. Smith. Misc. Coll. **106**, No 21 (1947). — Went, F. W.: Effects of light on stem and leaf growth. Amer. J. Bot. **28**, 83 (1941). — Whitmore, R. A.: Light and pigment in the kidney bean. Plant Physiol. **19**, 569 (1944). — Wiesner, G.: Untersuchungen über Vitalfärbungen von Alliumzellen mit basischen Hellfeldfarbstoffen. Protoplasma (Wien) **40**, 405 (1951). — Wiesner, J.: Formänderung von Pflanzen bei Kultur im absolut feuchten Raum und im Dunkeln. Ber. dtsch. bot. Ges. **9**, 46 (1891). — Williams, W. T., R. D. Preston and G. W. Ripley: A biophysical study of etiolated broad bean internode. J. of Exper. Bot. **6**, 451 (1955). — Withrow, R. B.: Response of seedlings to various wavebands of low intensity irradiation. Plant Physiol. **16**, 2 (1941). — Withrow, R. B., W. H. Klein, L. Price and V. Elstad: Influence of visible and near infrared radiant energy on organ development and pigment synthesis in bean and corn. Plant Physiol. **28**, 1 (1953).

Dr. Ilse Reimers, Berlin-Steglitz, Amfortasweg 17

Planta, Bd. 49, S. 489—493 (1957)

Aus dem Institut für Physikalische Chemie der Universität Jena

DER VERGLEICH DER ASSIMILATORISCHEN UMSÄTZE VON CHLORELLA PYRENOIDOSA IM „WARBURG-GEMISCH" (P_H 8,8) UND IM „EMERSON-GEMISCH" (P_H 9,4)

Von

BOGISLAV RACKOW

Mit 2 Textabbildungen

(Eingegangen am 22. März 1957)

In vorliegender Arbeit soll mit Hilfe der polarometrischen Methode das Ergebnis nachgeprüft werden, ob, wie O. WARBURG[5] mitteilt, der assimilatorische Umsatz im Bikarbonat-Karbonatgemisch vom p_H 8,8 etwa dreimal so groß ist (entsprechend 3—4 Lichtquanten je 1 O_2) wie im Bikarbonat-Karbonatgemisch vom p_H 9,4 (entsprechend 9—12 Lichtquanten je 1 O_2). Die Ergebnisse im letztgenannten Gemische wurden von WARBURG und EMERSON nahezu übereinstimmend gefunden[5, 2] und zwar dadurch, daß O_2 manometrisch bzw. volumetrisch gemessen wurde, wobei CO_2 beim alkalischen Milieu vom p_H 9,4 als Bikarbonat in Lösung blieb und die gasvolumetrische Messung nicht komplizierte.

Das erstgenannte Gemisch, hier Emerson-Gemisch genannt, besteht aus 85 Volumenteilen m/10 $NaHCO_3$ und 15 Volumenteilen m/10 Na_2CO_3 und hat einen CO_2-Druck von 0,22% einer Atmosphäre. Das zweite, hier Warburg-Gemisch genannt, besteht aus 95 Volumenteilen m/5 $NaHCO_3$ und 5 Volumenteilen m/5 Na_2CO_3 und besitzt einen CO_2-Druck von 2% einer Atmosphäre. Anschaulich ist die Gegenüberstellung beider Meßreihen in der Arbeit von WARBURG (1952, S. 339, Abb. 2). Um diese Angaben nachzuprüfen, ergab sich die Notwendigkeit, die Geschwindigkeiten, mit denen O_2 einmal im Warburg- und einmal im Emerson-Gemisch entwickelt wird, miteinander gleichzeitig zu verfolgen. Dabei müssen bei beiden Ansätzen alle übrigen Bedingungen, wie Volumen und Gehalt der Suspension, Temperatur, Gefäßform, Lichtstärke, Meßvorrichtung völlig gleich sein, damit sie aus der Messung „herausfallen", und die Meßvorrichtung darf nur die O_2-Menge unabhängig vom CO_2- und p_H-Wert anzeigen. Man muß also nebeneinander einen „Wettlauf" der Reaktionen im Warburg- und im Emerson-Gemisch beobachten. Im übrigen müssen Temperatur, Lichtstärke und Zelldichte etwa den Bedingungen von WARBURG entsprechen, daß möglichst alle Zellen Licht bekommen und daß die Photosynthese etwa 10mal so schnell abläuft wie die Dunkelatmung. Dementsprechend wurden die Suspensionsdichte und die Lichtstärke eingestellt.

Die Apparatur (Abb. 1)

Die O_2-Entwicklung wurde mit Hilfe der „abgekürzten Polarographie", auch „Polarometrie" genannt, zeitlich verfolgt. In einer früheren Arbeit[3] hat Verfasser die Kinetik der Aufnahme von in Wasser gelöstem Sauerstoff durch die menschliche Haut gemessen. Inzwischen ist das Ergebnis von anderer Seite durch Messungen an lebenden Menschenhautstückchen in der Warburg-Apparatur quantitativ bestätigt worden. Die Methode hat sich hier nicht nur bei quantitativen O_2-Be-

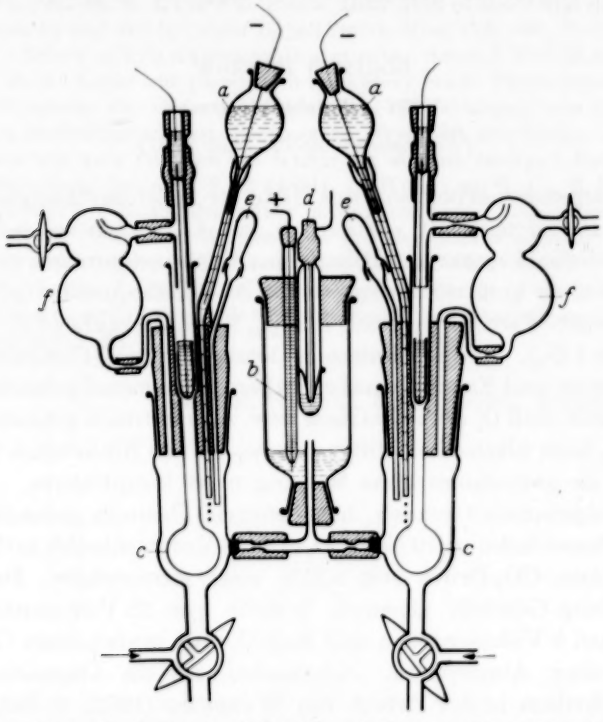


Abb. 1. Apparatur. *a* Quecksilbertropfkathoden mit Vorratsgefäß; *b* dazugehörige Anode; *c* Glaselektroden; *d* dazugehörige Kalomel-Elektrode; *e* Gummikappen; *f* Überlaufkugeln

stimmungen bewährt; sie hat auch die Besonderheiten des zeitlichen Verlaufs der O_2-Aufnahme sowie deren Veränderlichkeit bei verschiedenartigen inneren und äußeren Einflüssen auf die Haut angezeigt. Nachdem wir also eine derartige Leistungsfähigkeit dieser Methode schon vielfach erprobt und ausgenutzt hatten, wandten wir sie auch auf das gegenwärtige Problem an. Ihre ausführliche Beschreibung, Theorie und Diskussion finden sich in der genannten Arbeit, auf die deshalb verwiesen sei. Anstelle der damals benutzten Normalelemente verwendeten wir nunmehr einen Schaltkasten mit Akkumulator, Spannungsteiler und Voltmeter. Der Vorteil der heute viel angewandten Methode nach TÖDT mit der Platinelektrode, der in ihrer hohen Empfindlichkeit bei sehr niedrigen Sauerstoffdrucken besteht, wird in unserem Falle nicht ausgenutzt, und der dort notwendige lästige Rührer konnte hier vermieden werden. Deshalb ließen sich hier Quecksilberelektroden verwenden. Die hier abgebildete Apparatur war bis zu den Gefäßstopfen in einen Lichtthermostaten versenkt; beide Gefäße wurden mit weißem Licht gleich stark

bestrahlt. Die Quecksilbertropfelektroden beider Seitengefäße wurden alternierend gegen die gleiche, am Boden des Mittelgefäßes befindliche Kaliumchlorid-Kalomel-Quecksilberanode gemessen. Ebenso wurden die p_H-Werte des Warburg- und Emerson-Gemisches gegen ein- und dieselbe Kalomelelektrode, die im Stopfen des Mittelgefäßes steckte, kontrolliert. Die dafür benutzten Glaselektroden waren wegen der Notwendigkeit farbloser Durchsicht mit KCl-Standardacetatpuffer gefüllt und wurden mit AgCl/Ag abgeleitet. Außerdem besaßen die Meßgefäßstopfen, die unten mit Paraffin ausgegossen und Picein abgedeckt waren, noch eine Durchführung für ein Röhrchen, auf dem eine Gummikappe saß. Diese wurde von Zeit zu Zeit vollgesaugt und wieder zusammengedrückt, wodurch ein Absitzen der Algen verhindert wurde. Eine vierte Durchführung enthielt ein Röhrchen als Zuleitung zu den Überlaufkugeln.

Durchführung der Messungen

Die Messungen wurden unter Mithilfe von Herrn Dipl.-Chem. Hans König durchgeführt. Wenn die Meßgefäße mit Lösung gefüllt waren, wurde durch den unten sitzenden Dreiwegehahn Luft eingeleitet, die durch die Flüssigkeit wirbelte und vorübergehend einen Teil der Flüssigkeit in die Kugeln drückte, die sich dann ebenfalls mit Luft füllten. Die Kugeln hatten Luftverbindung mit den Hälsen der Glaselektroden, damit die Glasmembranen nicht druckmäßig belastet wurden. Man stellt den Ausschlag des Galvanometers so ein, daß er die ganze Skala umfaßt. Nun bläst man Stickstoff durch den Apparat, und nach 20—30 min ist der Ausschlag des Galvanometers auf einen sehr kleinen Bruchteil des vorigen Ausschlages zurückgegangen und wird dann nicht mehr unterschritten. Die Differenz beider Ausschläge gibt die Höhe der polarographischen Sauerstoffstufe bei Luftsättigung an. Wird nun eine sauerstoffhaltige Lösung nacheinander in mehreren gleichen Volumina nach Entfernung und Wiederaufsetzen der Gummikappen hinzupipettiert, so steigt der Galvanometerausschlag um genau gleiche Beträge an; pipettiert man *Clorella* ein und belichtet konstant, so erhält man eine konstante O_2-Entwicklung, und, wie Abb. 2 zeigt, ein praktisch lineares Anwachsen der Sauerstoffstufe mit der Zeit. Das Abbiegen der oberen Geraden in die Horizontale wird dadurch verursacht, daß dort, wie eine Eichmessung zeigte, bereits die Übersättigung und Entgasung der Flüssigkeit begonnen hat. Die Lösungen des Warburg- und Emerson-Gemisches wurden nach Vorschrift angesetzt und deren p_H-Werte auf 8,8 und 9,4 eingestellt, und zwar wurden sie sowohl nach Michaelis, als auch noch zur Sicherheit nach Gillespie bestimmt, sowie durch die Glaselektroden kontrolliert und nach den Messungen nochmals bestimmt. Wenn nun etwa $^1/_2$ Std lang Stickstoff hindurchgeleitet wurde, stieg bei beiden Gefäßen der p_H-Wert um kaum 0,1. Während der Assimilation änderte sich der p_H-Wert praktisch nicht.

Das Institut für Protophytenkunde in Jena lieferte uns den Zuchtansatz von *Chlorella pyrenoidosa* [Stamm 211—8B (Göttingen)]

bakterienfrei, der abzentrifugiert und in wenig destilliertem Wasser suspendiert wurde. Dann wurde er mittels einer graduierten 2 ml-Pipette auf beide 60 ml fassende, mit den Gemischen gefüllte Meßgefäße gleichmäßig verteilt. Im Dunkeln wurde etwa $^1/_2$ Std lang Stickstoff hindurchgeleitet, auf die Gummikappe gedrückt, damit die in die Kugeln gestiegene Lösung wieder zurückfiel und die in den Meßgefäßen verbliebenen Gasblasen herausgetrieben wurden. Nun wurde alternierend gemessen, d. h. zunächst das eine Quecksilbergefäß hochgehängt, die eine Tropfelektrode eingeschaltet, abgelesen, heruntergehängt, umgeschaltet und dasselbe mit der anderen Seite wiederholt usw.

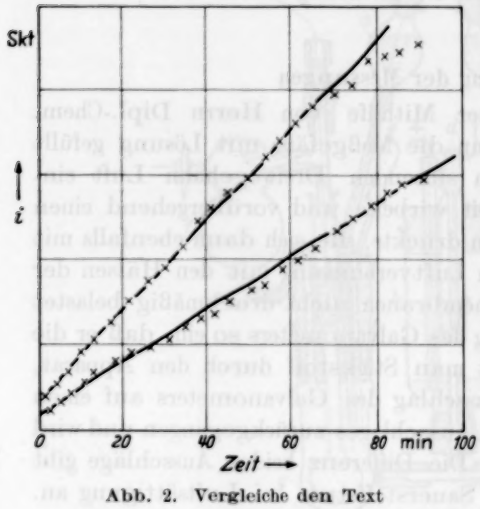


Abb. 2. Vergleiche den Text

In $1^1/_2$ Std wurden 2mal 24 Messungen gemacht. Das Ergebnis zeigt Abb. 2.

Die obere Kurve stellt den Umsatz im Warburg-Gemisch dar, die untere den im Emerson-Gemisch. Beide Umsätze waren nun weder, wie wir zunächst vermuteten, gleich, noch betrug der im Warburg-Gemisch das Dreifache des anderen, sondern, entsprechend dem Steigungsverhältnis der Geraden, nur das 1,6fache. Das bedeutet, daß, wenn die Photosynthese im Emerson-Gemisch 9—12 Quanten pro 1 O_2 verbraucht, dieser Bedarf im Warburg-Gemisch nach unseren Messungen etwa 6—7 und nicht 3—4 Quanten betragen muß. Da die Ausbeute des Warburg-Gemisches nahezu die maximale Ausbeute darstellen soll, so würde die maximale Quantenausbeute nach unseren Messungen sich demnach nur auf 6—7 Quanten belaufen *.

Es wurde eingewendet, daß bei einer Relativmessung mit geeichten Quecksilberelektroden diese eine so große Fehlerstreuung hätten, daß solche Elektroden die Mengenunterschiede von der Größenordnung 1:1,7:3 nicht unterscheiden könnten, d. h. sie würden mit Streufehlern von 100—300% belastet sein. Darauf wäre zu erwidern, daß es keine polarographische Analyse gäbe, wenn das zuträfe. Wenn wir jedoch unserer Methode $\pm$ 10% Fehler zubilligen würden (so stark streut sie

* Damaschke und Tödt in Berlin-Dahlem (vgl. auch[1]) haben bei ihrer amperometrischen Nachprüfung der Quantenausbeuten in Abhängigkeit von den genannten Gemischen ein ähnliches Werteverhältnis wie wir erhalten, worüber sie selbst veröffentlichen werden (frdl. Privatmitteilung von Herrn Dr. K. Damaschke).

sicherlich nicht), dann würde das Verhältnis wie 0,9 ··· 1,1 zu 1,5 ··· 1,9 zu 2,7 ··· 3,3 sein, wodurch die Signifikanz unseres Ergebnisses in keiner Weise beeinträchtigt würde.

Zusammenfassung

Mit Hilfe der polarometrischen O_2-Bestimmung wird das Umsatzverhältnis in diesen beiden Gemischen nicht, wie von O. Warburg angegeben, wie 1:3 sondern nur wie 1:1,6 gefunden.

Literatur

[1] Damaschke, K., F. Tödt, D. Burk and O. Warburg: Biochim. et Biophysica Acta **12**, 347 (1953). — [2] Emerson, R., and Ch. M. Lewis: Amer. J. Bot. **26**, 208 (1939); **28**, 789 (1941). — [3] Rackow, B.: Z. Naturforsch. **9b**, 487 (1954). — [4] Warburg, O.: Naturwiss. **39**, 339 (1952). — [5] Warburg, O., H. Geleick u. K. Briese: Z. Naturforsch. **7b**, 141 (1952).

Dr. B. Rackow, Jena, Stumpfenburgweg 2

Planta, Bd. 49, S. 494—497 (1957)

Aus dem Institut für Physikalische Chemie der Universität Jena

IST DIE PFLANZLICHE PHOTOSYNTHESE EINE LICHTREAKTION MIT RÜCKLÄUFIGER DUNKELREAKTION? EIN VERSUCH, DEN KREISPROZESS MIT FERROBICARBONAT NACHZUWEISEN

Von

Bogislav Rackow

Mit 1 Textabbildung

(Eingegangen am 22. März 1957)

O. Warburg[5] berichtet, daß eine Suspension der Grünalge *Chlorella pyrenoidosa* in den ersten Sekunden nach dem Einsetzen der Belichtung zu einem großen Sauerstoffausstoß entsprechend dem Quantenbedarf 1 je 1 O_2 veranlaßt wird. Dieser O_2 soll dann in den nächsten Sekunden in einer Rückreaktion so weit wieder aufgebraucht werden, bis nur noch 1 O_2 nach Einstrahlung von etwa 3 Quanten ausgeschieden wird. Er berichtet, daß gelber Phosphor, der sich im Gasraum über der Alge befindet und den anfänglichen Ein-Quantensauerstoff abfängt, die Assimilation der Alge zum Stillstand bringt, weil ihr der für die Rückreaktion benötigte O_2 entzogen wird.

Gaffron und Rosenberg[2] berichten in einem Sammelreferat, daß auch von anderer Seite mehrere Versuche unternommen wurden, diese Blockierung der Assimilation durch Verhindern der nach Warburg benötigten Rückreaktion nachzuweisen.

Gaffron und Rosenberg hatten den Sauerstoff durch Pd/H_2 entfernt und manometriert. Der CO_2-Wechsel, der mit der Glaselektrode verfolgt wurde, zeigte keine Rückreaktionserscheinungen. Auch Frank Allen, der im anfänglich O_2-freien Stickstoffstrom assimilieren ließ, fand keinerlei Hemmung. Brown konnte, als er O_2^{34} auf die assimilierenden Algen einwirken ließ, nachweisen, daß dieser *nicht* anstelle von O_2^{32} in die hypothetische Rückreaktion eingegangen ist. Wittingham konnte auch spektroskopisch unter Anwendung von Hämoglobin keinen solchen „Kreisprozeß" finden.

Warburg entzog, wie erwähnt, dem Gasraum über der geschüttelten Algensuspension den Sauerstoff durch gelben Phosphor und fand, daß die Photosynthese dabei praktisch zum Stillstand kam, d. h. daß keine CO_2-Änderung mehr gemessen wurde. Erst nachdem die Algen wieder mit O_2 behandelt waren, kam die Photosynthese wieder in Gang. Dieses Ergebnis ließ sich jedoch zunächst auch folgendermaßen interpretieren:

Das anfängliche Fehlen der Abnahme von CO_2 beruht auf der Unzulänglichkeit der Zweigasmethode; weiterhin werden nach den Beobachtungen von Gaffron[2] die Algen durch Phosphordämpfe

vergiftet und können erst wieder assimilieren, wenn die giftigen niederen Oxydationsprodukte des Phosphors rechtzeitig durch frische Luft verjagt oder zu Phosphorsäure oxydiert worden sind. — Diese Möglichkeit legte eine Nachprüfung des Problems mit einer anderen Methode nahe.

Beschreibung des Versuches

Eine in ihrer Nährlösung befindliche *Chlorella*-Suspension, die nach Sauerstoffentzug mit CO_2 gesättigt worden war, wurde mit weißem, suspendiertem Eisen(II)-Carbonat versetzt. Die Darstellung des Eisen(II)-Carbonates, die Ent- und Begasung der Lösungen und das Überführen von einem Gefäß in das andere unter Luftausschluß wurde mit der in Abb. 1 dargestellten Apparatur nach der bekannten Methode vorgenommen, mit der die Komplexchemiker luftempfindliche Verbindungen herstellen. Das Eisen(II)-Carbonat löste sich in der CO_2-gesättigten Algenkultur vollständig und farblos als Bicarbonat auf.

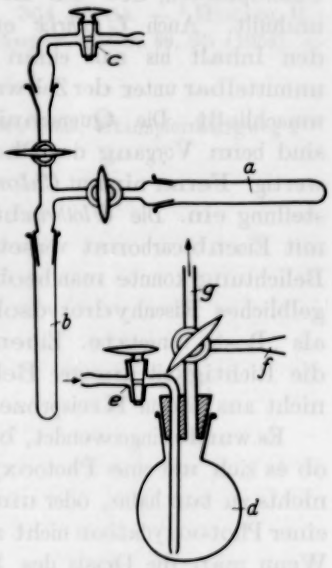


Abb. 1. Apparatur. *a* Röhrchen für $FeSO_4$-Lösung; *b* Röhrchen für $FeCO_3$-Suspension; *c* Vakuumanschlußstück; *d* Kolben für Algensuspension; *e* Einlaß für CO_2; *f* Einlaß für $FeCO_3$-Suspension; *g* Schliff für *c*

Es sind nun bei darauffolgender Belichtung drei Möglichkeiten denkbar. Erstens: Die Algen erleiden eine zunächst unsichtbar bleibende Schwermetallvergiftung. Zweitens: Das Eisenbicarbonat, welches bekanntlich O_2 mit unmeßbar schneller Geschwindigkeit unter Abscheiden von braunem, kolloidem $Fe(OH)_3$ absorbiert, nimmt den austretenden Sauerstoff schon an der Algenzellwand in Empfang, bindet ihn und läßt ihn nicht mehr zurückreagieren. Der in der Alge verbliebene Sauerstoff würde dann zur Rückreaktion nicht ausreichen, so daß die Photosynthese zum Stillstand käme. Man hätte in diesem Falle also eine Bestätigung von WARBURGs Phosphorversuch und sähe ebenfalls keine Veränderung, könnte aber nicht zwischen dieser zweiten und der erstgenannten Möglichkeit unterscheiden. Die dritte Möglichkeit wäre folgende: Die Konzeption eines Kreisprozesses beruht auf einem Fehlschluß: Es reagiert kein von der Alge abgeschiedener Sauerstoff zurück. Die Photosynthese geht ungestört weiter, und in der Nachbarschaft der Alge würde Fe(III) sichtbar. In diesem Falle würde WARBURGs Ergebnis mit Phosphor auf einer Vergiftung beruhen.

Überraschenderweise entschied unser Versuch für die dritte Möglichkeit, nämlich daß Fe(III) ausgeschieden wurde und die Suspension

immer brauner wurde, je länger die Belichtung dauerte, während an der entsprechenden Dunkelprobe nichts dergleichen zu sehen war. Da aber die *Chlorella*-Suspension an sich immer etwas trübe ist, haben wir diesen Versuch auch noch an der Grünalge *Ulothrix zonata* geprüft, deren Zellen einen Faden bilden, und die sich als sauber auswaschbare Watte in klarer Lösung beobachten und gut im Demonstrationsversuch vorführen läßt. Sie hat mit *Chlorella* das für unseren Versuch wichtigste Merkmal gemeinsam. *Chlorella* besitzt in ihrer Zelle nur einen einzigen Chloroplasten, der den Zellinhalt schalenförmig bis auf eine Kerbe umhüllt. Auch *Ulothrix* enthält in ihren Zellen nur einen einzigen, den Inhalt bis auf einen Spalt umschließenden Chloroplasten, der unmittelbar unter der Zellwand den Zellinhalt wie eine grüne Manschette umschließt. Die Querschnittsdimensionen von *Chlorella* und *Ulothrix* sind beim Vorgang der Photosynthese und Diffusion praktisch gleichwertig. Ferner nimmt *Chlorella* auch zellphysiologisch keinerlei Sonderstellung ein. Die *Ulothrix*bündel wurden gewaschen und in der klaren, mit Eisenbicarbonat versetzten Lösung kräftig durchgeschüttelt. Bei Belichtung konnte man beobachten, wie sich anfänglich aus den Bündeln gelbliches Eisenhydroxydsol herausentwickelte und sich dann an ihnen als „Rost ansetzte. Einen einfacheren und sinnfälligeren Beweis für die Richtigkeit unserer Behauptung, daß der abgefangene Sauerstoff nicht aus einem Kreisprozeß stammt, gibt es wohl kaum.

Es wurde eingewendet, bei unserem Versuch sei nicht zu entscheiden, ob es sich um eine Photooxydation handelt, die mit der Photosynthese nichts zu tun habe, oder um echte Photosynthese. Daß die Möglichkeit einer Photooxydation nicht zutreffen kann, ist aus folgendem zu ersehen: Wenn man die Dosis des kristallisierten Eisensulfats höher als etwa 40 mg je 100 cm^3 Wasser ansetzt und noch dazu die Algen in dieser Lösung eine Zeitlang im Dunkeln stehen läßt, so tritt in der Tat eine Schwermetallvergiftung ein, und die Abscheidung von $Fe(OH_3)$ im nachträglich eingeschalteten Licht unterbleibt vollständig, so daß von einer Photooxydation keine Rede sein kann.

Damaschke, Rothbühr und Tödt[1] sind ebenfalls zum Ergebnis gekommen, daß O_2 zur Einleitung der Photosynthese nicht notwendig ist, daß aber die normale Photosynthese nur dann in Gang gehalten werden kann, wenn Sauerstoff für die Atmung zur Verfügung steht. Das heißt also, daß die weiteren Synthesen, in die das Photoprodukt später eingeht, Energie aus der Atmung benötigen[3,4]. Die Assimilation muß also durch die nötige Lichtstärke usw. so stark gehalten werden, daß die Atmung aufrechterhalten wird, wobei der für die Atmung verwendete Sauerstoff gleich nach seinem Entstehen bei Belichtung verbraucht wird, ohne die Zelle zu verlassen.

Zusammenfassung

Es werden zunächst WARBURGs Versuch, die Photosynthese durch O_2-Entzug mit gelbem Phosphor zu unterbinden, sowie die diesbezüglichen Arbeiten anderer Autoren besprochen.

Es wird sodann gezeigt, daß in Ferrobicarbonatlösung, die den O_2 sofort an der Zellwand abfängt, die Photosynthese nicht unterbunden wird.

Literatur

[1] DAMASCHKE, K., L. ROTHBÜHR u. F. TÖDT: Z. Naturforsch. **10b**, 572 (1955). — [2] GAFFRON, H., u. J. ROSENBERG: Naturwiss. **42**, 354 (1955). — [3] HOLZER, H.: Z. Naturforsch. **6b**, 424 (1951). — [4] HOLZER, H.: Angew. Chem. **66**, 65 (1954). — [5] WARBURG, O.: Z. Elektrochem. **55**, 447 (1951).

Dr. B. RACKOW, Jena, Stumpfenburgweg 2

Planta, Bd. 49, S. 498—504 (1957)

Aus dem Biologischen Laboratorium der Österreichische Stickstoffwerke AG Linz

ZELLPHYSIOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE WIRKUNG VON 3-AMINOTRIAZOL UND 3-(α-IMINOÄTHYL)-5-METHYL-TETRONSÄURE ALS SPEZIFISCHE CHLOROPHYLLBILDUNGSHEMMSTOFFE BEI ELODEA CANADENSIS

Von

HANS LINSER und OSWALD KIERMAYER

Mit 4 Textabbildungen

(Eingegangen am 6. März 1957)

Verschiedene chemische Substanzen können die Form und Struktur von Chloroplasten beeinflussen. So tritt bekanntlich durch Natrium- oder Kaliumchromat bei *Elodea canadensis* eine starke Reduktion der Chloroplasten, verbunden mit einem Abbau des Chlorophylls ein (LÄRZ 1942, STRUGGER 1949). Eine andere Wirkung übt das Rubidiumchlorid auf die Chloroplasten aus. Hierbei nehmen die Chlorophyllkörner Riesen- oder Zwergformen an und verkleben sich zu längeren Ketten (LÄRZ 1942).

Eine weitere und besonders interessante Beeinflussung der Chloroplasten erfolgt durch verschiedene Alkaloide (z. B. Cocain oder Nicotin), die zu einer „Alkaloidvakuolisation" der Plastiden führt (z. B. STRUGGER 1949). Die Erscheinung ist wahrscheinlich darauf zurückzuführen, daß durch die Einwirkung von Alkaloiden die Plastidengrenzschicht für Zucker impermeabel wird und der während der Assimilation gebildete Zucker sich im Stroma der Chloroplasten so stark anreichert, daß sich die Plastidengrenzschicht osmotisch blasenförmig vorwölbt.

Während nun die oben angeführten Stoffe eine Wirkung auf die bereits *ausgebildeten* Plastiden ausüben, wurden in jüngerer Zeit Substanzen gefunden, die offenbar die *Bildung* von Chlorophyll hemmen. Solche Stoffe sind das in der Herbizidliteratur bekannte 3-Aminotriazol und seine verschiedenen Derivate[1], sowie die 3-(α-Iminoäthyl)-5-methyltetronsäure, die von ALAMERCERY et al. (1951) und HAMNER und TUKEY (1951) als eine Substanz beschrieben wird, die ebenfalls die Chlorophyllbildung hemmt.

Da die bisherigen Untersuchungen mit den eben genannten Stoffen lediglich im Hinblick auf ihren herbiziden Effekt bei Sprühversuchen an verschiedenen Pflanzen (z. B. *Phaseolus vulgaris*, *Avena sativa*)

[1] ALLEN, W. W.: US-Patent Nr. 2670282 (1954) und Deutsches Patent Nr. A 18170 IVa/45 l (1953).

untersucht wurden, schien es von besonderem Interesse, zellphysiologische Untersuchungen mit den genannten Stoffen anzustellen. Als Versuchsobjekt dienten dazu frische Triebe von *Elodea canadensis*, die sich zur Untersuchung der Plastiden als besonders geeignet erwiesen.

Das bei unseren Versuchen verwendete *Elodea canadensis*-Material stammte aus einem Teich des Botanischen Gartens der Stadt Linz. Die Pflanzen wurden in großen Standgläsern in Originalwasser möglichst kühl im Glashaus weiterkultiviert. Für die Versuche, die in den Monaten Juni bis September 1956 durchgeführt wurden, kamen je 6 etwa 6 cm lange *Elodea*-Triebe in Neubauerschalen, die je 300 cm^3 der wäßerigen Versuchslösung einer bestimmten Konzentration (10^{-1} bis 10^{-5}%) enthielten. Für jede Wirkstoffkonzentration kamen 4 Schalen zur Verwendung; 4 Schalen enthielten destilliertes Wasser und dienten als Kontrollen. Die mit den *Elodea*-Sprossen beschickten Schalen wurden im Glashaus aufgestellt. Als Wirkstoffe wurden 3-Aminotriazol (Merck), 3-Amino-5-methyltriazol[1] sowie 3-(α-Iminoäthyl)-5-methyl-tetronsäure[2] verwendet. 5—6 Tage nach dem Einlegen der *Elodea*-Sprosse in die Versuchslösungen zeigten sich schon makroskopisch in den 10^{-2}- und 10^{-3}%igen Lösungen deutlich hellere Blätter an den Sproßenden. Die mikroskopische Untersuchung dieser Blätter ergab nun, daß die Mehrzahl der Zellen normal grüne Chloroplasten entwickelt hatte, daß jedoch in vielen Zellen vornehmlich an der Blattbasis die *Plastiden farblos und stark gequollen* waren.

6—10 Tage nach Versuchsbeginn waren die jüngsten Blätter der Sprosse vollkommen weiß (Abb. 1 links) während die alten, fertig ausgebildeten Blätter unverändert ihre grüne Färbung beibehielten. Bei der mikroskopischen Untersuchung der „weißen" Blätter ergab sich, daß die Plastiden aller Zellen *farblos* waren und als gequollene Massen vom stark strömenden Plasma mitgeführt werden. Vielfach waren anstelle der Plastiden kleine runde Vacuolen entwickelt, in denen ein dünner, stabförmiger, grün gefärbter Plastidenrest zu erkennen war (Abb. 2). Die vielen kleinen Vacuolen, die scheinbar als Rest der Plastiden übrigblieben, wurden vom strömenden Plasma mitgetrieben.

Bei Vitalfärbung der vakuolisierten Zellen mit Neutralrot (1:6000, p_H 7,1) zeigte sich, daß die Hauptvacuole den Farbstoff in Form kleiner Krümel speicherte, die kleinen Vacuolen dagegen *vollkommen farblos* blieben. Der Vacuoleninhalt der Hauptvacuole scheint sich somit chemisch von dem der kleinen Vacuolen zu unterscheiden. Ob es sich bei diesen Vacuolen um ähnliche wie bei der „Alkaloidvakuolisation" handelt, müßte noch weiter untersucht werden.

[1] Die Substanz wurde im I. Organischen Laboratorium der Österreichische Stickstoffwerke AG synthetisiert.

[2] Die Substanz wurde im I. Chemischen Laboratorium der Universität Wien synthetisiert.

Auch das Protoplasma und der Zellkern erschienen stärker granuliert und gequollen. In vielen Zellen waren die Plastiden mit dem gequollenen Plasma zu einer einheitlichen, stark strömenden Masse verschmolzen, in der eine deutliche Unterscheidung von Chloroplasten nicht möglich war. Es entstand dadurch vielfach der Eindruck, als würden die Zellen überhaupt keine Chloroplasten enthalten, dafür aber von einer erhöhten Menge an lebhaft strömendem Plasma erfüllt sein.

Abb. 1. *Elodea canadensis*, Sprosse nach etwa einmonatigem Verweilen in Teichwasser, welchem 3-Aminotriazol (10^{-3} %ig) zugesetzt war. Bei der 1. und 2. Pflanze von links Ausbildung völlig „weißer" Sprosse, welche nicht mehr weiterwuchsen; bei der 3.—5. bildete der offenbar nicht völlig gebleichte Vegetationspunkt nach Ausbildung „weißer" Blätter im selben Milieu wieder normal grüne Sprosse aus

Die Plasmaströmung war keine reine „Rotationsströmung", wie dies bei *Elodea canadensis* normalerweise der Fall ist, sondern dicke oder feinere Plasmastränge strömten quer in allen Richtungen durch die Zelle. Die Hauptmasse an Protoplasma zeigte allerdings noch die normale Rotationsströmung.

Die Bildung chlorophylloser Blätter konnte bis zu einer Konzentration von 10^{-4}% beobachtet werden, dagegen zeigte eine hohe Wirkstoffkonzentration (10^{-1}%) unerwarteterweise *keinen Einfluß*. Dies ist vielleicht darauf zurückzuführen, daß durch eine so hohe Konzentration bereits die Bildung neuer Blätter gehemmt wird, der Chlorophylleffekt aber nur an jungen neu gebildeten Blättern erkennbar ist.

Die „weißen" *Elodea*-Sprosse starben nach mehreren Tagen ab, wobei sich die Blatträndер braun verfärbten. Vielfach konnte auch beobachtet werden, daß aus dem „weißen" Sproßende *in der gleichen Wirkstofflösung* wieder ein normal grüner Jungtrieb heranwuchs (Abb. 1 rechts). In diesem

Fall scheint die Wirkung der zugeführten Stoffe sich nur auf die neu gebildeten Blätter, nicht aber auf die Sproßachse selbst erstreckt zu haben.

Die gleichen Versuche wie mit 3-Aminotriazol wurden ferner mit 3-(α-Iminoäthyl)-5-methyltetronsäure (ALAMERCERY et al. 1951) und 3-Amino-5-methyltriazol durchgeführt, die im Hinblick auf die Hemmung der Chlo-

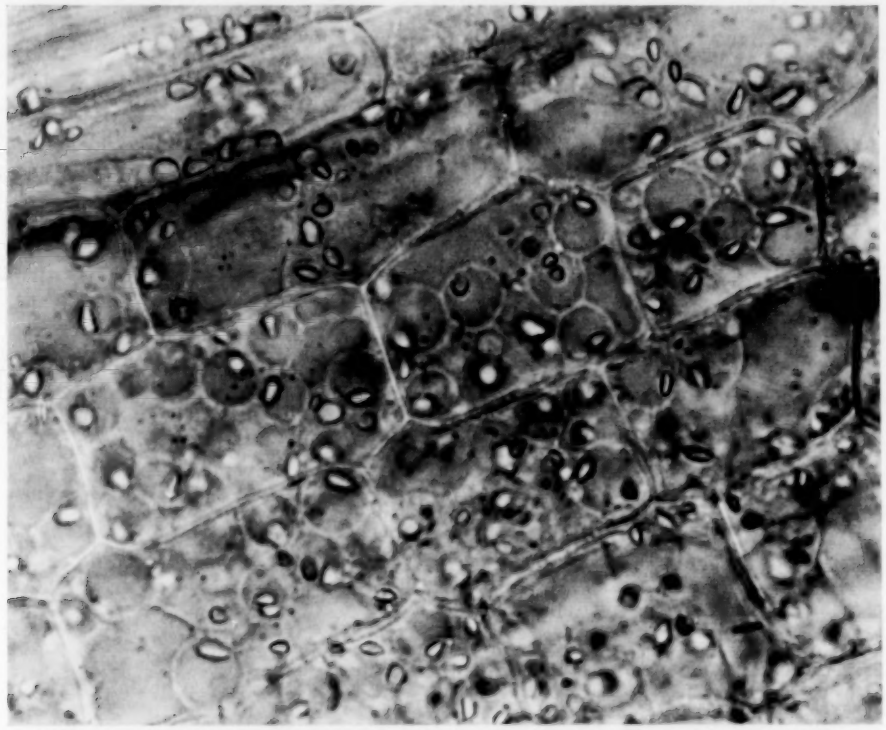


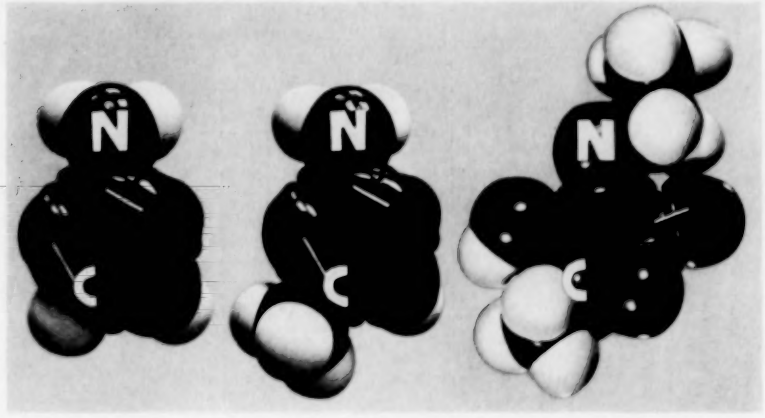
Abb. 2. *Elodea canadensis*, mikroskopische Aufsicht auf die Oberseite eines Blattes, welches unter Einwirkung von 3-Aminotriazol als „weißes" Blatt entwickelt wurde. Es zeigt anstelle von Chloroplasten Vacuolen mit einem stäbchenähnlichen Inhaltskörper. Trotz der tiefgreifenden morphologischen wie chemischen Veränderung des Zellinhaltes befindet sich das Protoplasma in *lebhafter Strömungsbewegung*

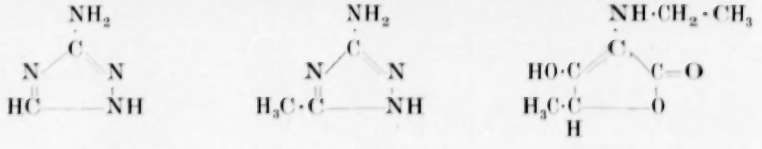
rophyllbildung in der gleichen Weise wirken wie 3-Aminotriazol. Allerdings scheint sowohl 3-(α-Iminoäthyl)-5-methyltetronsäure als auch 3-Amino-5-methyltriazol bedeutend weniger wirksam zu sein als 3-Aminotriazol.

Während bei 3-Aminotriazol „weiße" Sprosse bei Konzentrationen von 10^{-2} bis 10^{-4}% auftraten, wurden solche bei 3-Amino-5-methyltriazol und 3-(α-Iminoäthyl)-5-methyltetronsäure bei 10^{-1} bis 10^{-3}% gefunden. 3-Aminotriazol kann somit als etwa 10fach so wirksam bezeichnet werden, wie die beiden anderen Stoffe.

In einer orientierend durchgeführten Versuchsreihe mit Hochmoor-algen (vor allem Desmidiaceen), die bekanntlich ausgezeichnete Objekte

für zellphysiologische Untersuchungen darstellen (CHOLNOKY und HÖFLER 1950) und an denen die Chloroplasten genau studiert werden können (z. B. EIBL 1939), wurde festgestellt, daß der Chloroplast von *Micrasterias rotata* und *Closterium lunula* nicht beeinflußt wird. Allerdings könnte dies damit erklärt werden, daß nur die *Bildung* von Chlorophyll gehemmt wird, eine Wirkung auf bereits voll entwickelte Chloroplasten jedoch nicht erfolgt.





3-Aminotriazol | 3-Amino-5-methyltriazol | 3-(α-Iminoäthyl-)-5-methyltetronsäure

Abb. 3. Molekülmodelle (nach STUART-BRIEGLEB, oben), sowie Strukturformeln (unten) der verwendeten Wirkstoffe

Wie die obigen Versuche zeigten, bewirkt sowohl 3-Aminotriazol als auch 3-(α-Iminoäthyl)-5-methyltetronsäure eine *vitale Hemmung der Chlorophyllbildung*, die schon durch geringste Mengen an Wirkstoff hervorgerufen wird und daher als *spezifische, hormonähnliche Wirkung* anzusehen ist. Dies vor allem auch deshalb, weil die genannten Stoffe selbst in höherer Konzentration keinen nekrotischen Effekt auf die Pflanzen ausüben, sondern lediglich die Bildung von Chlorophyll hemmen, wodurch die jüngsten, farblosen Triebe zwar absterben, die älteren Pflanzenteile aber *normal* am Leben bleiben.

Die analoge Wirkung, welche die drei untersuchten Stoffe ausüben, läßt vermuten, daß sie in gleicher Weise in das während der Sproßentwicklung und während der Vermehrung bzw. Entwicklung der Chloroplasten sich abspielende Stoffwechselgeschehen, welches zur Chlorophyllbildung führt, eingreifen. Zunächst läßt sich zwar nicht entscheiden,

in welcher Weise und an welcher Stelle diese Substanzen eingreifen, auch kann noch nicht mit Sicherheit ausgesagt werden, ob sich die von 3-Aminotriazol und 3-(α-Iminoäthyl)-5-methyltetronsäure ausgeübten Wirkungen in *allen* Erscheinungen als identisch erweisen werden. Da vorläufig jedoch kein prinzipieller Unterschied erkennbar ist, erhebt sich die Frage, wieso zwei chemisch so verschiedenartige Stoffe, wie Aminotriazol und eine Iminotetronsäure in der Lage sein können, in gleichartiger Weise in ein einziges, sicherlich sehr spezialisiertes Stoffwechselgeschehen, wie es die Chlorophyllbildung ist, einzugreifen und zu gleichartigen Wirkungen zu führen. Im Hinblick auf die bei Zellstreckungswuchsstoffen gemachten Erfahrungen von Linser (1954, 1955), welche zeigten, daß für die Zellstreckungswirksamkeit verschiedener Stoffe Ähnlichkeiten der räumlichen Strukturen der Moleküle (Form, Größe) eine wesentlichere Rolle spielen können als die chemische Zusammensetzung (Art der Atome, welche die Molekülform aufbauen) oder deren elektrische Konfiguration (Ladungsmuster), war es daher von Interesse, die Molekularstrukturen beider Wirkstofftypen einander gegenüberzustellen. Die Molekülmodelle der drei in vorliegender Arbeit verwendeten Wirkstoffe sind in Abb. 3 dargestellt. Im chemischen Aufbau der Aminotriazole und der Iminotetronsäure besteht nur insofern eine Ähnlichkeit, als beide Stofftypen eine an dem Kohlenstoff eines 5-Ringes sitzende NH-Gruppe und außerdem ein methylsubstituiertes oder -substituierbares C-Atom im 5-Ring besitzen (in Abb. 3 oben mit N bzw. C bezeichnet). Als räumliches Merkmal kommt dazu, daß dieses Stickstoffatom sowie das substituierbare Kohlenstoffatom am 5-Ring in 3- bzw. 5-Stellung stehen, so daß eine räumlich bei allen drei Stoffen gleiche Aneinanderlegung von N, C und C vorliegt, welche dem Schema der Abb. 4 entspricht.

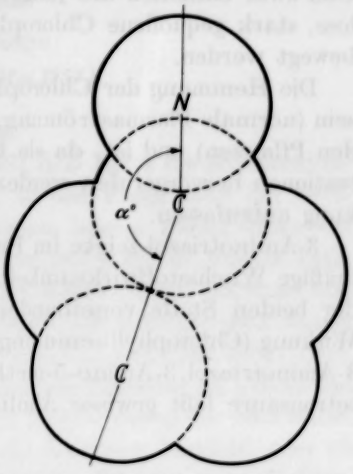


Abb. 4. Die für Aminotriazol und Iminotetronsäure identische Atomfiguration N—CC. Der Winkel α ist charakteristisch

Da 3-Aminotriazol bekanntlich als Herbizid in der Landwirtschaft eingesetzt wird, schien es von Interesse, die chlorophyllhemmenden Substanzen auch im Hinblick auf ihre Wuchsstoffeigenschaften zu untersuchen. Wie Linser und Kiermayer (1956) mit Hilfe des Pastentestes (Linser 1938) feststellen, zeigt 3-Aminotriazol bei einer Konzentration von 10^{-1}% eine stärkere *wachstumsfördernde* Wirkung. 3-(α-Iminoäthyl)-5-methyltetronsäure und 3-Amino-5-methyltriazol waren dagegen wirkungslos.

Für die Herstellung der photographischen Abbildungen danken wir Herrn Dozent Schild und Herrn Dr. Jarosch herzlich.

Zusammenfassung

Zellphysiologische Untersuchungen mit 3-Aminotriazol, 3-Amino-5-methyltriazol und 3-(α-Iminoäthyl)-5-methyltetronsäure an *Elodea canadensis* ergaben, daß diese Substanzen die Bildung von Chlorophyll *spezifisch hemmen* und eine Vakuolisation der Plastiden hervorrufen. Und zwar enthalten die jungen Blätter der behandelten Pflanzen farblose, stark gequollene Chloroplasten, die vom strömenden Plasma mitbewegt werden.

Die Hemmung der Chlorophyllbildung scheint ein vitaler Prozeß zu sein (normale Plasmaströmung, keinerlei nekrotische Veränderungen an den Pflanzen) und ist, da sie bereits durch geringste Wirkstoffkonzentrationen hervorgerufen werden kann, als spezifische *hormonartige* Wirkung aufzufassen.

3-Aminotriazol zeigte im Pastentest bei höherer Konzentration eine mäßige Wuchsstoffwirksamkeit. Trotz der chemischen Verschiedenheit der beiden Stoffe voneinander zeigten sie eine gleiche physiologische Wirkung (Chlorophyllhemmung). Ein Vergleich der Molekülmodelle von 3-Aminotriazol, 3-Amino-5-methyltriazol und 3-(α-Iminoäthyl)-5-methyltetronsäure läßt gewisse Ähnlichkeiten erkennen.

Literatur

Alamercery, J., C. L. Hamner and M. Latus: Chlorophyll inhibition and growth regulation by several tetronic acid derivatives. Nature (Lond.) **168**, 85 (1951). — Cholnoky, B. v., u. K. Höfler: Vergleichende Vitalfärbeversuche an Hochmooralgen. Sitzgsber. österr. Akad. Wiss., Math.-naturwiss. Kl. Abt. I **159**, 143 (1950). — Eibl, K.: Kontraktion der Chromatophoren bei *Micrasterias rotata*. Protoplasma **33**, 73 (1939). — Hamner, C. L., and H. B. Tukey: Chlorophyll inhibition and herbicidal action of 3-(α-Imino-ethyl)-5-methyl-tetronic acid. Bot. Gaz. **112**, 525—528 (1951). — Lärz, H.: Beiträge zur Pathologie der Chloroplasten. Flora (Jena) **135**, 319 (1942). — Linser, H.: Zur Methodik der Wuchsstoffbestimmung. Planta (Berl.) **28**, 227 (1938). — Chemische Konstitution und Zellstreckungswirkung verschiedener Stoffe, I. Mh. Chem. **85**, 196 (1954). — Chemical configuration and action of different growth substances and growth inhibitors: New experiments with the paste method. Proc. of a Symp. Wye Coll. 1955. — Linser, H., u. O. Kiermayer: Chemische Konstitution und Zellstreckungswirkung verschiedener Stoffe, II. Mh. Chem. **87**, 709 (1956). — Strugger, S.: Praktikum der Zell- und Gewebephysiologie der Pflanze, 2. Aufl. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1949.

Priv.-Doz. Dr. Hans Linser, Linz a. d. Donau (Österreich), Landstr. 115

Planta, Bd. 49, S. 505—523 (1957)

Aus dem Botanischen Institut der Universität Marburg a. d. Lahn

UNTERSUCHUNGEN ZUM PROBLEM DER PHOTOCHEMISCHEN NITRATREDUKTION IN GRÜNALGEN

Von

ERICH KESSLER*

Mit 5 Textabbildungen

(Eingegangen am 14. Mai 1957)

I. Einleitung

Seit der Beobachtung SCHIMPERS (1888), daß Licht die Nitratreduktion grüner Pflanzen stark beschleunigt, ist die Frage nach der Rolle photochemischer Prozesse bei dieser Reaktion immer wieder diskutiert und bearbeitet worden (WARBURG und NEGELEIN 1920, BURSTRÖM 1943, 1945, RABINOWITCH 1945, MYERS 1949, ANDREEVA 1951, MENDEL und VISSER 1951, DAVIS 1953, VAN NIEL u. Mitarb. 1953, EVANS und NASON 1953, KESSLER 1953a, 1955b, c, VANECKO und VARNER 1955, STOY 1955, 1956, BONGERS 1956). Trotz der umfangreichen Literatur ist jedoch das Problem, ob es sich bei der unbestrittenen Lichtwirkung um eine echte, der Photosynthese analoge photochemische Reaktion handelt, oder ob nur eine indirekte, durch photosynthetische Bildung von Kohlenhydraten bedingte Förderung der Nitratreduktion vorliegt, immer noch nicht zufriedenstellend geklärt worden. Befunden, die für eine direkte photochemische Reduktion sprechen (z. B. BURSTRÖM 1943, MENDEL und VISSER 1951, VAN NIEL u. Mitarb. 1953, EVANS und NASON 1953), stehen die Beobachtungen von DAVIS (1953) an *Chlorella* und von KESSLER (1955b) an *Ankistrodesmus* gegenüber, daß im Licht in Abwesenheit von CO_2, d. h. bei ausgeschalteter Photosynthese, eine nur sehr geringe Nitratreduktion stattfindet. Wenn aber das Nitrat im Licht mit dem CO_2 um die primären H-Donatoren der Photosynthese konkurrieren würde, dann müßte gerade unter diesen Bedingungen eine lebhafte Nitratreduktion zu beobachten sein.

Da die Reduktion des Nitrats bis zur Ammonstufe in mehreren Reaktionsschritten verläuft, erschien es lohnend, den Einfluß des Lichtes auf die Reduktion von Zwischenprodukten zu untersuchen. Den

* Diese Arbeit wurde in den Research Institutes (Fels Fund) der University of Chicago durchgeführt. Der National Academy of Sciences und der International Cooperation Administration danke ich für die Gewährung eines Forschungs-Stipendiums, Herrn Prof. Dr. H. GAFFRON für mannigfache Anregungen und Diskussionen.

Ausgangspunkt dieser Arbeit bildete die Beobachtung, daß Licht die Reduktion von Nitrit durch *Ankistrodesmus* sehr stark fördert (KESSLER 1953a). Ähnliche Erfahrungen wurden auch mit Diatomeen (HARVEY 1953), *Lemna* (YOSHIMURA 1952) und Weizenblättern (VANECKO und VARNER 1955) gemacht. Diesen Ergebnissen, die in Anwesenheit von CO_2 erhalten wurden, kam jedoch noch keine Beweiskraft zu. Es galt daher, derartige Versuche bei CO_2-freier Atmosphäre durchzuführen (vgl. KESSLER 1955b, c), um die Möglichkeit einer indirekten Lichtwirkung durch neu gebildete Photosyntheseprodukte auszuschalten.

II. Methodik

Versuchsobjekt war der in Marburg isolierte Stamm von *Ankistrodesmus braunii*. Für manometrische Versuche stand ein Schwachlicht-Warburg-Apparat zur Verfügung, der Untersuchungen bis zu einer Lichtintensität von 4200 Lux erlaubte. Einige Versuche mit hoher Beleuchtungsstärke (13000 Lux) wurden in einem Thermostaten ausgeführt, in dem die Gefäße von unten her durch zehn 100 W-Glühlampen belichtet wurden. Wo nicht anders angegeben, wurden die Versuche bei 25° C in N-freier Nährlösung (p_H 6,3) durchgeführt. Um Atmung und Photooxydationen zu unterbinden, wurde gewöhnlich unter Stickstoff-Atmosphäre gearbeitet. Nach Herstellung der anaeroben Bedingungen wurden die Algen vor Einschalten des Lichtes 3 Std im Dunkeln geschüttelt. Nitrat, Nitrit oder Chinon wurden jeweils bei Beginn der Belichtung zugesetzt. Quantitative Nitritbestimmungen erfolgten im photoelektrischen Colorimeter von KLETT-SUMMERSON mit Sulfanilsäure + α-Naphthylamin. Das in einigen Versuchen verwendete Chinon wurde stets unmittelbar vorher durch Sublimieren gereinigt. Weitere methodische Angaben finden sich bei KESSLER (1957a, b).

III. Experimentelle Ergebnisse

1. Reduktion von Nitrat, Nitrit und Chinon

Wird einer Suspension von *Ankistrodesmus braunii* unter CO_2- und O_2-freier Atmosphäre Nitrat zugesetzt, so findet im Licht eine gegenüber N-freien Kontrollen nur wenig erhöhte O_2-Entwicklung statt (Abb. 1). Ihre Geschwindigkeit ist nicht größer als die der Extra-CO_2-Produktion bei der Nitratreduktion im Dunkeln unter aeroben Bedingungen (vgl. Tabelle 1). Auch bei p_H 4,5 und mit erhöhter Nitratkonzentration

Tabelle 1. *Geschwindigkeit des Gaswechsels bei der Reduktion von Nitrat und Nitrit durch Ankistrodesmus braunii (Durchschnittswerte)*

	mm^3/Std/mg Trockensubstanz
aerobe Atmung (O_2-Verbrauch)	2
aerobe Nitratreduktion im Dunkeln (Extra-CO_2-Entwicklung)	1
Nitratreduktion im Licht mit CO_2 (Extra-O_2-Entwicklung)	10
Nitratreduktion im Licht ohne CO_2 (O_2-Entwicklung)	1
Nitritreduktion im Licht mit CO_2 (Extra-O_2-Entwicklung)	20
Nitritreduktion im Licht ohne CO_2 (O_2-Entwicklung)	10

(10^{-2} molar) durchgeführte Versuche ergeben das gleiche Resultat. Dies entspricht durchaus den von DAVIS (1953) sowie von FAN, STAUFFER und UMBREIT (1943), MYERS (1949) und KOK (1951) für *Chlorella* mitgeteilten Befunden*. In Anwesenheit von CO_2 (Tabelle 1) oder von Glucose (DAVIS 1953) verläuft die Nitratreduktion dagegen etwa zehnmal so schnell.

Unter den gleichen Bedingungen führt ein Zusatz von Nitrit sofort zu lebhafter Gasentwicklung (Abb. 1, Tabelle 1). Befindet sich in der Ansatzbirne der Gefäße alkalische Pyrogallol-Lösung, so treten nur minimale Druckänderungen auf (Tabelle 2); es handelt sich also bei dem entstehenden Gas um Sauerstoff. Wird am Schluß des Versuches die Nitritkonzentration gemessen, so ergibt sich, daß je Mol reduzierten Nitrits etwa 1,5 Mole O_2 entwickelt werden (Tabelle 3). Die Reaktion entspricht damit der summarischen Gleichung

$$HNO_2 + H_2O \xrightarrow{\text{Licht}} NH_3 + 1^1/_2\, O_2.$$

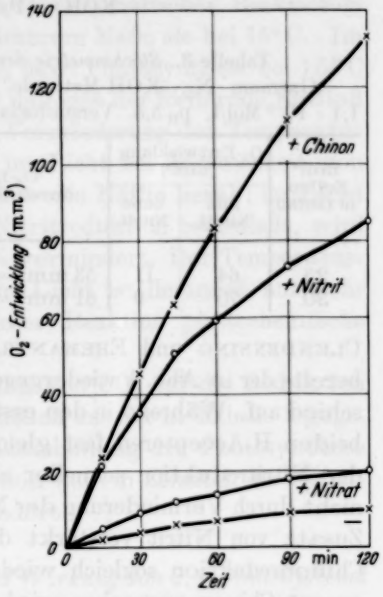


Abb. 1. Sauerstoffentwicklung bei der Reduktion von Nitrat, Nitrit und Chinon durch *Ankistrodesmus braunii* im Licht (13000 Lux). Gasraum N_2. KOH-Methode. Temperatur 15° C. 21 mm³ Zellen (6,3 mg Trockensubstanz) je Gefäß. Konzentration der zugesetzten H-Acceptoren: KNO_3 $8{,}3 \cdot 10^{-4}$ Mol/l; $NaNO_2$ $1{,}1 \cdot 10^{-3}$ Mol/l; Chinon $3{,}3 \cdot 10^{-3}$ Mol/l. Theoretische Ausbeute: 179 mm³ O_2 in allen Fällen. Die Algen wurden vor diesem Versuch zur Verarmung an Stickstoff 4 Std in N-freier Nährlösung in der Kulturanlage belichtet (Intensität 4000 Lux)

Dieselben Verhältnisse fanden auch VANECKO und VARNER (1955) bei der Reduktion von Nitrit durch Weizenblätter im Licht. Es sei jedoch betont, daß die obige Gleichung nichts über den Mechanismus der Nitritreduktion aussagt. Auf Grund unserer Versuche läßt es sich z. B. nicht entscheiden, ob bei dieser Reaktion CO_2 als Zwischenprodukt auftritt, ähnlich wie dies bei der Reduktion von Ferricyanid durch intakte Algenzellen der Fall ist (GOOD 1955, WARBURG und KRIPPAHL 1955, SCHWARTZ 1956).

Man ist zunächst versucht, die Reduktion von Nitrit als ein Analogon zur Hill-Reaktion mit Chinon als H-Acceptor bei Algen (WARBURG 1948,

* Nur unter sehr unphysiologischen Verhältnissen, im „Nitratgemisch" (n/10 $NaNO_3$, n/100 HNO_3; p_H 2,0), wurde von WARBURG und NEGELEIN (1920) eine lebhafte Nitratreduktion und O_2-Entwicklung im Licht auch bei Abwesenheit von CO_2 gefunden. Über ähnliche Ergebnisse unter normalen Versuchsbedingungen berichtete kürzlich BONGERS (1956).

Tabelle 2. *Wirkung von alkalischem Pyrogallol auf die Gasentwicklung bei der Nitritreduktion im Licht (13000 Lux)*
Gasraum N_2. Temperatur 15° C. Zugesetzte Nitritmenge 10^{-3} Mol/l.

KOH	34 mm³
KOH + Pyrogallol	2 mm³

Tabelle 3. *Stöchiometrie der Nitritreduktion im Licht (13000 Lux)*
Gasraum N_2. KOH-Methode. Temperatur 15° C. Zugesetzte Nitritmenge $1{,}1 \cdot 10^{-3}$ Mol/l. p_H 5,5. Versuchsdauer 70 min.

mm³ Zellen je Gefäß	O_2-Entwicklung (mm³) mit Nitrit	O_2-Entwicklung (mm³) ohne Nitrit	O_2-Entwicklung durch Nitritreduktion	Nitrit reduziert	Mole O_2 / Mole Nitrit
25	64	11	53 mm³ = $23{,}6 \cdot 10^{-7}$ Mol	$14{,}2 \cdot 10^{-7}$ Mol	1,66
30	70	9	61 mm³ = $27{,}2 \cdot 10^{-7}$ Mol	$15{,}7 \cdot 10^{-7}$ Mol	1,73

CLENDENNING und EHRMANTRAUT 1950) zu betrachten. Jedoch zeigt bereits der in Abb. 1 wiedergegebene Versuch einen wesentlichen Unterschied auf. Während in den ersten 15 min die Sauerstoffentwicklung mit beiden H-Acceptoren fast gleich ist, nimmt dann die Geschwindigkeit der Nitritreduktion schneller ab als die der Chinonreduktion. Dies ist nicht durch Verminderung der Nitritkonzentration bedingt: Ein weiterer Zusatz von Nitrit verstärkt die O_2-Entwicklung kaum, während die Chinonreduktion sogleich wieder mit voller Intensität einsetzt, wenn erneut Chinon zugegeben wird. Auch muß vermerkt werden, daß isolierte Spinat-Chloroplasten zwar Chinon, nicht aber Nitrit (KESSLER 1953a) im Licht zu reduzieren vermögen.

2. Temperaturabhängigkeit der Nitritreduktion und Wirkung von CO_2

Um weitere Aufschlüsse über den Mechanismus der Reduktion von Nitrit im Licht und ihre Beziehungen zur Photosynthese zu erhalten, wurde die Temperaturabhängigkeit dieser Reaktion in An- und Abwesenheit von CO_2 untersucht. Ein typischer Versuch, bei dem auch die aerobe und anaerobe Nitritreduktion im Dunkeln einbezogen wurde, ist in Tabelle 4 dargestellt. Als wesentliche Ergebnisse seien hervorgehoben,

Tabelle 4. *Wirkung von Temperatur und CO_2 auf die Nitritreduktion*
Lichtintensität 13000 Lux. Zugesetzte Nitritmenge $5{,}5 \cdot 10^{-4}$ Mol/l. p_H 4,5. Versuchsdauer 1 Std. 25 mm³ Zellen (7,5 mg Trockensubstanz) je Gefäß.

	Nitritreduktion [Mol × 10^{-8}]			
	Licht		Dunkel	
	N_2 + 4 % CO_2	N_2	Luft	N_2
15° C	212	108	40	20
4° C	110	90	20	8

daß die Nitritreduktion im Licht unter Stickstoffatmosphäre ohne CO_2 ein Mehrfaches der Reduktion im Dunkeln unter aeroben und insbesondere unter anaeroben Bedingungen beträgt. Licht ist also, auch bei ausgeschalteter Photosynthese, viel wirksamer als die aerobe Atmung. Dies gilt bei 4° C, wo die Geschwindigkeit enzymatischer Reaktionen erheblich vermindert ist, in noch viel stärkerem Maße als bei 15° C. Im Licht wird die Nitritreduktion durch CO_2 bzw. Photosynthese bei 15° C um etwa 100% beschleunigt; bei 4° C ist dagegen der fördernde Einfluß des CO_2 viel geringer (etwa 20%). Eine Verminderung der Temperatur von 15° auf 4° setzt im Dunkeln sowie im Licht bei Anwesenheit von CO_2 die Reaktionsgeschwindigkeit auf etwa die Hälfte herab; im Licht ohne CO_2, wo keine Photosynthese die Nitritreduktion beeinflußt, wird diese Reaktion dagegen nur um etwa 15% vermindert. Der Temperaturkoeffizient der Reduktion von Nitrit im Licht ist demnach nur sehr gering, ein Zeichen dafür, daß bei dieser Reaktion photochemische Prozesse eine wesentliche Rolle spielen.

Der große Unterschied in der Wirkung von CO_2 auf die Reduktion von Nitrat und Nitrit geht besonders deutlich aus der in Tabelle 1 gegebenen Zusammenfassung hervor. Bei Ausschaltung der Photosynthese durch CO_2-Mangel wird die Nitratreduktion auf ein Zehntel, die Nitritreduktion aber nur auf die Hälfte vermindert.

3. Abhängigkeit von der Lichtintensität und Wirkung von 2,4-Dinitrophenol

Nachdem die bisher mitgeteilten Versuche sämtlich bei hoher Lichtintensität (13000 Lux) gemacht worden waren, führte ein Schwachlicht-Versuch (330 Lux) zu dem überraschenden Ergebnis, daß unter diesen Bedingungen die Reduktion von Nitrit fast doppelt so schnell erfolgt wie bei 13000 Lux. Die daraufhin aufgenommene Lichtabhängigkeitskurve dieser Reaktion zeigt den in Abb. 2 wiedergegebenen ganz ungewöhnlichen Verlauf. Bis hinab zu etwa 1000 Lux bleibt die Geschwindigkeit der Nitritreduktion konstant. Dann findet ein steiler Anstieg zu einem scharfen Maximum bei ungefähr 330 Lux statt, dem ein schneller Abfall auf den sehr geringen anaeroben Dunkelwert folgt. Bei der äußerst niedrigen Lichtstärke von 40 Lux verläuft die Nitritreduktion noch etwas schneller als bei 4200 oder 13000 Lux.

Das eigenartige Maximum der Nitritreduktion im Bereich sehr geringer Lichtintensitäten ließ vermuten, daß dort neben der normalen Licht-Nitritreduktion nach der Gleichung

$$HNO_2 + H_2O \xrightarrow{\text{Licht}} NH_3 + 1^1/_2\, O_2 \qquad (1)$$

noch eine andere Art von Nitritreduktion stattfindet. Nachdem sich gezeigt hatte, daß *Ankistrodesmus braunii* das Enzym Hydrogenase besitzt und molekularen Wasserstoff zur Reduktion von Nitrit verwenden

kann (KESSLER 1957b), lag die Annahme nahe, daß der von solchen Algen im Licht unter CO_2-freier Stickstoffatmosphäre entwickelte H_2 (GAFFRON und RUBIN 1942, FRENKEL 1952) oder seine Vorstufen zu einer *zusätzlichen* Nitritreduktion nach der Gleichung

$$HNO_2 + 3\,H_2 \xrightarrow{\text{Hydrogenase}} NH_3 + 2\,H_2O \qquad (2)$$

benutzt werden kann. Bei höherer Lichtintensität würde die O_2-Entwicklung nach Gleichung (1) eine Deadaptation der Hydrogenase verursachen, so daß dann eine reine Licht-Nitritreduktion vorliegen würde.

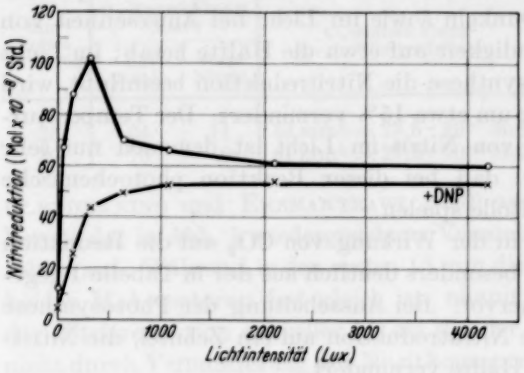


Abb. 2. Nitritreduktion in Abhängigkeit von der Lichtintensität in An- und Abwesenheit von 2,4-Dinitrophenol ($2 \cdot 10^{-4}$ Mol/l). Gasraum N_2. Zugesetzte Nitritmenge 10^{-3} Mol/l. 20 mm³ Zellen (6,0 mg Trockensubstanz) je Gefäß

Der Beweis für die Richtigkeit der Annahme, daß eine Summierung von Nitritreduktion nach Gleichung (1) und (2) für das Maximum im Schwachlicht verantwortlich ist, konnte auf drei verschiedenen Wegen erbracht werden. In früheren Untersuchungen hatte sich 2,4-Dinitrophenol (DNP) als spezifischer Hemmstoff für die Nitritreduktion im Dunkeln unter aeroben Bedingungen (KESSLER 1955a) und mit molekularem Wasserstoff (KESSLER 1957b) erwiesen. Die Reduktion von Nitrit *im Licht* ist dagegen erheblich weniger empfindlich: Bei p_H 6,3 wird diese Reaktion durch $2 \cdot 10^{-4}$ m. DNP nur um 15% herabgesetzt (Tabelle 5), während die Reduktion von Nitrit mit H_2 durch die gleiche

Tabelle 5. *Wirkung von 2,4-Dinitrophenol ($2 \cdot 10^{-4}$ Mol/l) auf die Nitritreduktion im Licht (4200 Lux)*

Gasraum N_2. Temperatur 25° C. Zugesetzte Nitritmenge 10^{-3} Mol/l. Versuchsdauer $1^3/_4$ Std. 18 mm³ Zellen (5,4 mg Trockensubstanz) je Gefäß.

Nitritreduktion [Mol × 10^{-6}]	
ohne DNP	mit DNP
88	75

DNP-Konzentration zu etwa 85% gehemmt wird (KESSLER 1957b). Durch ihre verschiedene Empfindlichkeit gegen DNP kann man demnach die Reaktionen (1) und (2) unterscheiden und experimentell voneinander trennen. Wird nun die Nitritreduktion in Abhängigkeit von der Licht-

intensität bei Anwesenheit von DNP untersucht, so zeigt sich, daß unter diesen Bedingungen das Maximum bei 330 Lux verschwindet (Abb. 2). Während im Starklicht die weniger DNP-empfindliche Reaktion (1) vorherrscht, wird die zusätzliche stark DNP-empfindliche Nitritreduktion nach Gleichung (2) im Schwachlicht durch dieses Gift unterbunden. — Darüber hinaus zeigt die mit DNP gefundene Lichtabhängigkeitskurve der Nitritreduktion, daß diese Reaktion bereits etwas unterhalb von 1000 Lux Lichtsättigung erreicht. Auch in dieser Beziehung besteht ein wesentlicher Unterschied gegenüber dem Verhalten von Photosynthese und Hill-Reaktion, die erst bei viel höherer Intensität Lichtsättigung haben (vgl. CLENDENNING und EHRMANTRAUT 1950).

Weiterhin mußte die Frage geklärt werden, ob der in Abwesenheit von Nitrit von den Algen entwickelte Wasserstoff tatsächlich für die im Schwachlicht beobachtete zusätzliche Nitritreduktion ausreicht. Der in Tabelle 6 dargestellte Versuch zeigt Umfang und Lichtintensitäts-

Tabelle 6. *Photochemische H_2-Entwicklung durch Ankistrodesmus bei verschiedenen Lichtintensitäten*

Gasraum N_2. KOH-Methode. Versuchsdauer 1 Std. 20 mm³ Zellen (6,0 mg Trockensubstanz) je Gefäß.

Lichtintensität (Lux)	mm³ H_2	Lichtintensität (Lux)	mm³ H_2
40	8,5		
150	26,5	1080	20,0
330	32,0	4200	15,5

Abhängigkeit der photochemischen H_2-Produktion. Auch diese Reaktion erreicht ihr Maximum bei 330 Lux; im Bereich höherer Beleuchtungsstärken wird sie infolge allmählicher Deadaptation der Hydrogenase langsam geringer. Bei 330 Lux beträgt die in einer Stunde von 20 mm³ Algen entwickelte H_2-Menge 32 mm³ = $143 \cdot 10^{-8}$ Mol. Im Vergleich dazu beläuft sich die bei 330 Lux in Abwesenheit von DNP zusätzlich reduzierte Nitritmenge auf $51 \cdot 10^{-8}$ Mol (Abb. 2; die 15%ige Hemmung der Licht-Nitritreduktion durch DNP wurde dabei berücksichtigt). Das Verhältnis $\frac{H_2}{NO_2'}$ ist demnach 2,8 und entspricht weitgehend dem im Dunkeln bei Abwesenheit von CO_2 beobachteten Quotienten 2,6 (KESSLER 1957b). Diese gute Übereinstimmung darf jedoch nicht überbewertet werden; denn aus methodischen Gründen läßt sich nicht sicher nachweisen, ob die photochemische H_2-Entwicklung durch Nitrit *vollständig* unterdrückt wird. Immerhin zeigt diese Berechnung, daß die unter N_2-Atmosphäre von den Algen produzierte Wasserstoffmenge größenordnungsmäßig zur Erklärung der zusätzlichen Nitritreduktion im Schwachlicht ausreicht. — Die Tatsache, daß oberhalb von 330 Lux

die zusätzliche Nitritreduktion viel schneller abfällt als die photochemische H_2-Produktion, läßt sich zwanglos erklären durch die O_2-Entwicklung bei der Licht-Nitritreduktion, die dann zu einer schnellen Deadaptation der Hydrogenase führt.

Als weiteres Argument zugunsten der Annahme, daß photochemisch entwickelter Wasserstoff für das Maximum der Nitritreduktion bei 330 Lux verantwortlich ist, kann der Befund angeführt werden, daß eine Verminderung der Hydrogenase-Aktivität durch Verkürzung der anaeroben Inkubation die zusätzliche Nitritreduktion im Schwachlicht stark herabsetzt.

4. Nitritreduktion im Licht unter H_2-Atmosphäre

Nachdem sich gezeigt hatte, daß unter Stickstoffatmosphäre bei geringer Beleuchtungsstärke Licht-Nitritreduktion und Reduktion von Nitrit mit photochemisch entwickeltem H_2 gleichzeitig ablaufen und sich additiv verhalten, war die Untersuchung der Lichtwirkung auf die Nitritreduktion unter reiner H_2-Atmosphäre von besonderem Interesse. Es ergab sich dabei das überraschende Resultat, daß unter diesen Bedingungen keinerlei Einfluß des Lichtes festzustellen ist; die Geschwindigkeit der Nitritreduktion mit molekularem Wasserstoff ist im Licht, unabhängig von der Beleuchtungsstärke, ebensogroß wie im Dunkeln (Abb. 3). Gleichfalls unerwartet kam der Befund, daß der unter N_2-Atmosphäre im Schwachlicht beobachtete hohe Wert der Nitritreduktion unter H_2-Atmosphäre nicht annähernd erreicht wird. Bei höherer Lichtintensität verläuft dagegen die Reduktion des Nitrits unter H_2 und unter N_2 ungefähr gleich schnell. Es folgt daraus, daß eine Summierung beider Reaktionen nur unter N_2-Atmosphäre stattfindet, wo eine geringe Menge H_2 von den Algen photochemisch entwikkelt wird, während diese Möglichkeit unter reiner H_2-Atmosphäre offenbar nicht besteht. Man muß daraus wohl schließen, daß Wasserstoff in hoher Konzentration die Licht-Nitritreduktion nach Gleichung (1) unterdrückt.

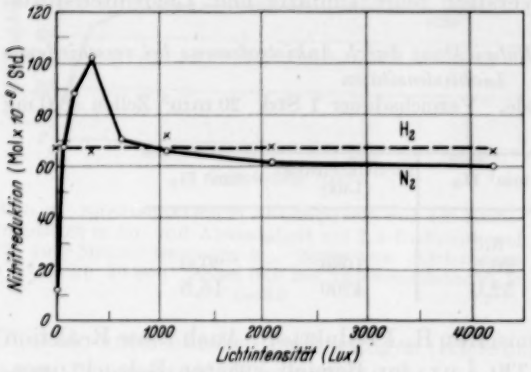


Abb. 3. Nitritreduktion in Abhängigkeit von der Lichtintensität unter H_2- bzw. N_2-Atmosphäre. Zugesetzte Nitritmenge 10^{-3} Mol/l. 20 mm³ Zellen (6,0 mg Trockensubstanz) je Gefäß

Manometrische Versuche ergaben, daß unter Wasserstoff-Atmosphäre auch im Licht eine Absorption von H_2 bei der Nitritreduktion stattfindet (Abb. 4) wie im Dunkeln. Für den Quotienten

$$\frac{\text{Mole } H_2 \text{ verbraucht}}{\text{Mole Nitrit reduziert}}$$

wurde im Licht der Wert 2,3 gefunden (Tabelle 7), verglichen mit 2,6 im Dunkeln bei Abwesenheit von CO_2 (KESSLER 1957 b). Ob hier ein signifikanter Unterschied vorliegt oder ob diese Differenz durch eine gleichzeitige geringfügige O_2-Entwicklung nach Gleichung (1) vorgetäuscht wird, kann auf Grund unserer Versuche nicht entschieden werden.

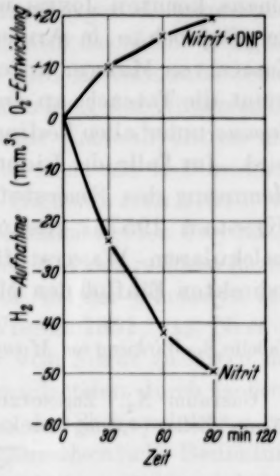


Abb. 4. Gaswechsel bei der Reduktion von Nitrit im Licht (4200 Lux) unter H_2-Atmosphäre in An- und Abwesenheit von 2,4-Dinitrophenol ($2 \cdot 10^{-4}$ Mol/l). KOH-Methode. Zugesetzte Nitritmenge 10^{-3} Mol/l. 18 mm³ Zellen (5,4 mg Trockensubstanz) je Gefäß

Setzt man unter H_2-Atmosphäre Dinitrophenol zu, so findet im Licht eine Entwicklung von Sauerstoff statt (Abb. 4) wie unter N_2. Dieses Ergebnis ist verständlich: Wird die Reduktion von Nitrit mit molekularem Wasserstoff durch DNP verhindert, so kann die weniger DNP-empfindliche Licht-Nitritreduktion noch fast ungehemmt ablaufen, und die H_2-Absorption nach Gleichung (2) wird durch O_2-Entwicklung nach Gleichung (1) ersetzt.

Tabelle 7. *Stöchiometrie der Reduktion von Nitrit mit Wasserstoff im Licht.* Gasraum H_2. KOH-Methode. Mittelwert aus 7 Versuchen (in Klammern: beobachtete Extremwerte).

$\frac{\text{Mole } H_2 \text{ verbraucht}}{\text{Mole Nitrit reduziert}}$
2,33 (2,11 — 2,61)

5. Wirkung von Manganmangel

Seit den Untersuchungen BURSTRÖMS (1939) ist eine Beteiligung des Mangans an der Nitratreduktion immer wieder diskutiert worden (z. B. ALBERTS-DIETERT 1941, KYLIN 1945, JONES u. Mitarb. 1949). Zwar konnte in den letzten Jahren der Nachweis erbracht werden, daß die Nitratreduktase Molybdän enthält (NICHOLAS und NASON 1954); aber die Frage nach den an den weiteren Reaktionsschritten vom Nitrit zum Ammonsalz beteiligten Schwermetallen ist noch offen. In diesem Zusammenhang ist es bemerkenswert, daß die Aktivität der Enzyme

Nitrit- und Hydroxylaminreduktase durch Mangan auf den 3—6fachen Wert gesteigert wird (NASON u. Mitarb. 1954, NASON 1956). Darüber hinaus konnten JONES u. Mitarb. (1949) zeigen, daß die bei Wurzeln der Sojabohne in Anaerobiose stattfindende Nitritanhäufung durch Zusatz von Mangan unterbunden wird. Angesichts dieser Befunde gewinnt die Tatsache an Interesse, daß die Nitritreduktion von *Ankistrodesmus* unter allen Bedingungen durch Manganmangel stark vermindert wird. Im Falle der Licht-Nitritreduktion (Tabelle 8) mag dies mit der Hemmung des Sauerstoff entwickelnden Systems der Photosynthese (KESSLER 1957a) zusammenhängen. Bei der Nitritreduktion mit molekularem Wasserstoff dagegen kann man kaum mit einem nur indirekten Einfluß des Manganmangels rechnen (KESSLER 1957b).

Tabelle 8. *Wirkung von Manganmangel (Dauer 10 Tage) auf die Nitritreduktion im Licht (4200 Lux)*

Gasraum N_2. Zugesetzte Nitritmenge 10^{-3} Mol/l. Versuchsdauer $1^3/_4$ Std. 15 mm³ Zellen (4,5 mg Trockensubstanz) je Gefäß.

Nitritreduktion [Mol × 10^{-6}]	
normal	—Mn
90	50

6. p_H-Abhängigkeit der Nitritreduktion

Die aerobe Nitritreduktion im Dunkeln hat bei *Ankistrodesmus* ihr p_H-Optimum im neutralen bis schwach alkalischen Bereich (KESSLER 1953a). Bei der Reduktion von Nitrit mit molekularem Wasserstoff dagegen nimmt die Reaktionsgeschwindigkeit zu mit steigender H-Ionenkonzentration (KESSLER 1957b). Es war daher von Interesse, auch die Licht-Nitritreduktion auf ihre p_H-Abhängigkeit zu untersuchen. Die Geschwindigkeit dieser Reaktion wird bei einer Erhöhung der Acidität von p_H 6,5 auf p_H 4,5 etwa verdreifacht (Tabelle 9). Unter diesen Bedingungen verläuft die O_2-Entwicklung bei der Nitritreduktion ebenso-

Tabelle 9. *p_H-Abhängigkeit der Nitritreduktion im Licht (13000 Lux)*

Gasraum N_2. Temperatur 15° C. Zugesetzte Nitritmenge $5{,}5 \cdot 10^{-4}$ Mol/l. Versuchsdauer 70 min. 25 mm³ Zellen (7,5 mg Trockensubstanz) je Gefäß.

	Nitritreduktion [Mol × 10^{-6}]
p_H 4,5	110
p_H 6,5	37

schnell oder schneller als bei der Hill-Reaktion mit Chinon. Wegen der Giftwirkung höherer Nitritkonzentrationen im sauren p_H-Bereich ist jedoch im allgemeinen das Arbeiten in Lösungen von $p_H > 6$ vorzuziehen.

IV. Diskussion

Um den Einfluß von Licht auf die Nitratreduktion grüner Pflanzen zu deuten, hat man eine große Zahl von Erklärungen herangezogen. WARBURG und NEGELEIN (1920) nahmen an, daß das Licht lediglich die Aufnahme des Nitrats beschleunigt ohne den Mechanismus seiner Reduktion zu verändern. Auch kann die Verstärkung der Nitratreduktion einfach auf einer reichlichen Lieferung von Kohlenhydraten und anderen Photosyntheseprodukten beruhen, die dann als H-Donatoren verwendet werden (z. B. ANDREEVA 1951). RABINOWITCH (1945) erwähnt die Möglichkeit einer vom Chlorophyll sensibilisierten Oxydation organischer Verbindungen durch Nitrat. Andere Autoren rechnen damit, daß Nitrat an Stelle von CO_2 als H-Acceptor bei der Photosynthese dienen kann (VAN NIEL 1941, MENDEL und VISSER 1951, VAN NIEL u. Mitarb. 1953). In vitro wurde die Reduktion von Nitrat zu Nitrit mit der photochemischen Reduktion von Pyridinnucleotiden durch isolierte Chloroplasten (EVANS und NASON 1953) sowie der Photoreduktion von Riboflavin (STOY 1956) gekoppelt. Auf die wahrscheinliche Bedeutung lichtabhängiger Phosphorylierungen für die Nitratreduktion haben KANDLER (1950), STOY (1955) und KESSLER (1955c) hingewiesen. Schließlich muß man auch mit der Möglichkeit einer rein photochemischen Reduktion des Nitrats ohne Beteiligung von Enzymen rechnen (FRANCK).

Unsere Untersuchungen haben nun gezeigt, daß *Ankistrodesmus braunii*, wie auch die von DAVIS (1953), KOK (1951), MYERS (1949) und FAN, STAUFFER und UMBREIT (1943) benutzten *Chlorella*-Stämme, kaum in der Lage ist, bei Fehlen von CO_2 und dadurch ausgeschalteter Photosynthese Nitrat im Licht zu reduzieren (vgl. auch ANDREEVA 1951). Unter den gleichen Bedingungen wird jedoch Nitrit mit erheblicher Geschwindigkeit unter Entwicklung von Sauerstoff verarbeitet. Der geringe Temperaturkoeffizient dieser Reaktion weist auf eine wesentliche Rolle photochemischer Prozesse bei der Reduktion des Nitrits hin. Daß jedoch keine rein photochemische Reaktion vorliegt, sondern vielmehr auch noch Enzyme daran beteiligt sind, folgt aus dem allerdings schwachen Einfluß der Temperatur auf diesen Vorgang. Formal ähnelt damit die Nitritreduktion im Licht der Reduktion von Protochlorophyll zu Chlorophyll, die sich gleichfalls durch einen nur sehr geringen Temperaturkoeffizienten auszeichnet (SMITH und BENITEZ 1954).

Trotz mancher Ähnlichkeiten bestehen zwischen der Reduktion von Nitrit im Licht und der Hill-Reaktion ganzer Algenzellen einige tiefgreifende Unterschiede, die auf einen stark verschiedenen Mechanismus hinweisen. So erreicht die Hill-Reaktion, wie die Photosynthese, Lichtsättigung bei hohen Intensitäten (etwa 6000—12000 Lux, je nach Art und Kulturbedingungen), während die Nitritreduktion bereits unterhalb

von 1000 Lux Sättigung hat. Fernerhin vermögen isolierte Chloroplasten zwar Chinon, nicht aber Nitrit (Kessler 1953a) zu reduzieren. Offensichtlich sind an der Reduktion von Nitrit noch andere Enzyme beteiligt, die für die Hill-Reaktion nicht benötigt werden. In diesem Zusammenhang ist von besonderem Interesse der Befund von Evans und Nason (1953), daß isolierte Chloroplasten bei Zugabe von Nitratreduktase und Triphosphopyridinnucleotid (TPN) im Licht Nitrat zu Nitrit reduzieren. Bei dieser Reaktion wird zunächst das TPN photochemisch zu TPNH reduziert, welches dann als H-Donator für die Nitratreduktase dient. Wäre jedoch dieser in vitro gefundene Mechanismus allgemeingültig auch in vivo, so müßte man erwarten, daß Algen bei Abwesenheit von CO_2 Nitrat in großem Maßstab reduzieren würden. Im Falle der isolierten Chloroplasten mag man die Notwendigkeit von Fermentzusätzen für die Nitratreduktion damit begründen können, daß Nitratreduktase und TPN bei der Isolierung und Reinigung der Chloroplasten verlorengehen; für intakte Algenzellen dagegen fällt dieser Einwand fort. Wenn *Ankistrodesmus* und andere Algen trotzdem nicht in der Lage sind, Nitrat bei Fehlen von CO_2 in erheblichem Ausmaß zu reduzieren, so muß man daraus schließen, daß der von Evans und Nason (1953) vorgeschlagene Mechanismus zumindest im Falle dieser Organismen keine entscheidende Rolle spielt. Anders liegen die Dinge dagegen beim Nitrit, das von Evans und Nasons System im Licht nicht reduziert wird, obwohl auch die Nitritreduktase reduzierter Pyridinnucleotide als H-Donatoren bedarf (Nason u. Mitarb. 1954, Nason 1956). Angesichts der schnellen Verarbeitung von Nitrit durch *Ankistrodesmus* ist die Möglichkeit in Erwägung zu ziehen, daß bei dieser Reaktion photochemisch reduzierte Pyridinnucleotide als H-Donatoren dienen. Da *Ankistrodesmus* auch über eine Nitratreduktase verfügt, die im Dunkeln unter aeroben Bedingungen und im Licht bei Anwesenheit von CO_2 sehr aktiv ist, muß man wohl annehmen, daß für die Reduktion von Nitrat und Nitrit verschiedene H-Donatoren notwendig sind, und daß nur der für die Nitritreduktion benötigte unter unseren Versuchsbedingungen im Licht gebildet werden kann. Ganz ähnliche Folgerungen hatten sich auch bei der Untersuchung der Reduktion von Nitrit und Nitrat mit molekularem Wasserstoff ergeben, wo gleichfalls Nitrit etwa zehnmal so schnell reagiert wie Nitrat (Kessler 1957b). — Die in Tabelle 10 zusammengestellten Daten geben einen Überblick über den Umfang der Nitritreduktion bei Lieferung von H-Donatoren durch photochemische Prozesse, Hydrogenase-Reaktion und aerobe Atmung.

Gegen die naheliegende Annahme, daß Photowasserstoff und der durch Hydrogenase aktivierte H_2 in einen gemeinsamen „pool" von reduzierten Pyridinnucleotiden gelangen, spricht jedoch der Befund, daß im Schwachlicht unter Stickstoffatmosphäre Licht-Nitritreduktion und

Reduktion von Nitrit mit photochemisch gebildetem H_2 sich additiv verhalten. Die im Vergleich zu diesem Maximum viel niedrigeren Werte der Nitritreduktion mit molekularem Wasserstoff bzw. der Licht-Nitritreduktion bei hoher Beleuchtungsstärke können offensichtlich nicht mit einer Begrenzung der Reaktionsgeschwindigkeit durch die Kapazität der Nitritreduktase erklärt werden. Auch H_2-Aktivierung durch Hydrogenase bzw. photolytische Wasserspaltung kommen nicht als limitierende Faktoren in Frage. Zur Deutung dieser Ergebnisse kann man die Möglichkeit in Erwägung ziehen, daß zwei verschiedene Wege der H-Übertragung bei der Nitritreduktion wirksam sind, ähnlich wie dies nach STOY (1955, 1956) bei der Reduktion von Nitrat durch Weizenblätter im Licht wahrscheinlich der Fall ist. Die Beobachtung STOYS (1956), daß Riboflavin ein wirksamerer H-Donator für die Nitratreduktase ist als DPNH, ist von besonderem Interesse in unserem Zusammenhang, weil auch die Hydrogenase offenbar ein Flavoprotein ist (SHUG, WILSON u. Mitarb. 1954). Man könnte deshalb annehmen, daß der Photowasserstoff auf dem Wege über die Hydrogenase das Pyridinnucleotid-System umgehen und dadurch eine zusätzliche Nitritreduktion ermöglichen kann. Eine solche Interpretation würde das Maximum dieser Reaktion im Schwachlicht unter Stickstoffatmosphäre erklären. Unverständlich bleibt jedoch dabei, warum die Geschwindigkeit der Nitritreduktion unter Wasserstoffatmosphäre nicht viel größer ist als die der Licht-Nitritreduktion, und warum eine Summierung beider Arten von Nitritreduktion nur unter N_2, nicht aber unter H_2 im Licht stattfindet.

Tabelle 10. *Geschwindigkeit der Nitritreduktion von Ankistrodesmus bei p_H 6,3*
Mittelwerte aus insgesamt 52 Versuchen (in Klammern: beobachtete Extremwerte)

	Nitritreduktion [Mol × 10^{-6}/Std je 6 mg Trockensubstanz]
N_2, dunkel	12 (10—14)
N_2, 330 Lux	102 (88—122)
N_2, 4200 Lux	62 (51—75)
H_2, dunkel	68 (42—92)
H_2 + 4% CO_2, dunkel	129 (100—173)
H_2, 4200 Lux	66 (54—69)
Luft, dunkel	94 (64—156)

Den experimentellen Ergebnissen wird vielleicht eine andere Deutung gerechter, welche die Tatsache berücksichtigt, daß nicht nur H-Donatoren für die Nitratreduktion notwendig sind, sondern auch energiereiche Phosphatbindungen. Aus der starken und spezifischen Empfindlichkeit der Nitritreduktion gegen 2,4-Dinitrophenol hatten wir geschlossen, daß gerade dieser Teilprozeß der Nitratreduktion, im Gegensatz zur Reaktion Nitrat → Nitrit, an Phosphorylierungsvorgänge gebunden ist (KESSLER 1953a, 1955a, c). Dieser Befund, im physiologischen Experiment an *Ankistrodesmus*-Zellen gewonnen, hat neuerdings eine Bestätigung

erfahren durch die Untersuchungen von NICHOLAS u. Mitarb. an zellfreien Enzympräparaten. Diese Autoren fanden, daß unter den Fermenten der Nitratreduktion nur Nitrit- und Hyponitritreduktase auf Phosphorylierungen angewiesen sind, während Nitrat- und Hydroxylaminreduktase sich als unempfindlich gegen DNP erwiesen (NICHOLAS und SCAWIN 1956, MEDINA und NICHOLAS 1957, NICHOLAS 1957). Wir nehmen deshalb an, daß das Licht, neben der Lieferung von H-Donatoren (z. B. reduzierten Pyridinnucleotiden und Flavinen), in die Nitratreduktion eingreift durch Bildung von energiereichem Phosphat (ATP) im Zuge der photosynthetischen Phosphorylierung. Da gerade die weitere Reduktion des Nitrits ATP benötigt, würde so der spezifische Einfluß des Lichtes auf diesen Teilprozeß der Nitratreduktion verständlich. Bemerkenswert ist in diesem Zusammenhang die Tatsache, daß Licht-Nitritreduktion und Licht-Phosphorylierung in einigen wesentlichen Eigenschaften übereinstimmen. So zeichnet sich auch die lichtabhängige Phosphorylierung aus durch einen niedrigen Temperaturkoeffizienten (STREHLER 1953) und durch eine geringe Empfindlichkeit gegen DNP im Vergleich zur aeroben Phosphorylierung im Dunkeln (KANDLER 1955). Photosynthetische Phosphorylierung (WHATLEY, ALLEN und ARNON 1955) und Licht-Nitritreduktion sind Prozesse, die auch unter anaeroben Bedingungen optimal verlaufen. Schließlich sei noch erwähnt, daß die Glucoseassimilation im Licht als Indicator für Phosphorylierungsvorgänge bei relativ geringer Beleuchtungsstärke Lichtsättigung erreicht (KANDLER 1954, 1957).

Man könnte dann annehmen, daß die Nitritreduktion im Dunkeln unter Wasserstoff-Atmosphäre begrenzt wird durch die Geschwindigkeit der Phosphorylierungen. Für die Hemmung der Licht-Nitritreduktion unter reinem H_2 kann man vielleicht eine Unterdrückung der ATP liefernden Rückreaktionen verantwortlich machen, wenn das erste oxydierte Produkt der Photosynthese („YOH") bevorzugt mit dem durch Hydrogenase aktivierten Wasserstoff reagiert. Nicht erklären kann man jedoch mit dieser Interpretation die relativ geringe Nitritreduktion im Starklicht unter N_2-Atmosphäre, obwohl unter diesen Bedingungen mit einer reichlichen Lieferung von H-Donatoren und energiereichem Phosphat gerechnet werden muß.

Das in Abb. 5 dargestellte Schema gibt einen Überblick über die wahrscheinlichen Zusammenhänge zwischen Photosynthese, Hydrogenase und Nitritreduktion. Wasserstoffübertragungen, vermittelt durch Pyridinnucleotide, Flavine oder andere Systeme, sind durch das Symbol (H) gekennzeichnet; in den meisten Fällen wird man damit zu rechnen haben, daß an diesen Vorgängen mehrere hintereinandergeschaltete H-Überträger beteiligt sind. Der erste Schritt der Nitratreduktion, die Reaktion Nitrat → Nitrit, wurde in dem Schema der Übersichtlichkeit wegen fortgelassen; im Gegensatz zur Nitritreduktion benötigt dieser Prozeß kein ATP, scheint jedoch auf das Vorhandensein von C-haltigen Photosyntheseprodukten angewiesen zu sein. — Für

Organismen, die keine Hydrogenase besitzen, entfällt in dem Schema naturgemäß der gesamte dieses Enzym betreffende Teil.

Fassen wir nun unsere Ergebnisse mit den bisher bekannten Tatsachen zusammen, so ergibt sich das folgende Bild von der Wirkung des Lichtes auf die Nitratreduktion grüner Pflanzen. Neben der Lieferung von H-Donatoren, die für alle Reaktionsschritte vom Nitrat zum Ammonsalz benötigt werden (Evans und Nason 1953, Nason 1956), hat das Licht auch energiereiches Phosphat zur Verfügung zu stellen, welches

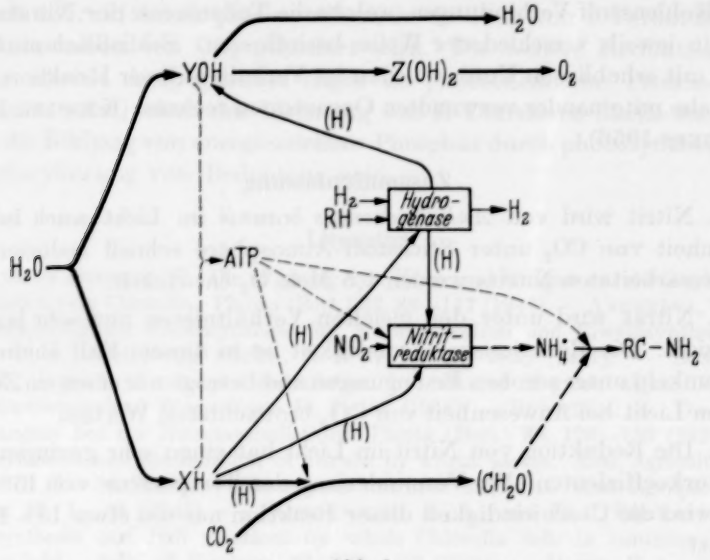


Abb. 5

speziell für die weitere Reduktion des Nitrits, nicht aber für die Reaktion Nitrat → Nitrit, notwendig ist (Kessler 1955a, c). Was die H-Donatoren anbelangt, so muß man auch damit rechnen, daß diese für Nitrat und Nitrit verschieden sein könnten (z. B. DPNH, TPNH oder reduzierte Flavine). Schließlich besteht für das Licht — bei Anwesenheit von CO_2 — noch eine dritte Möglichkeit, in die Nitratreduktion einzugreifen, nämlich auf dem Wege über die photosynthetische Erzeugung von C-Verbindungen. Diese werden insbesondere für die Bildung von Aminosäuren, d. h. für die Überführung des reduzierten Stickstoffs in organische Bindung, benötigt; daneben scheint ihnen auch eine Rolle bei der Reduktion von Nitrat zu Nitrit zuzukommen, wie aus der Abhängigkeit dieser Reaktion im Licht von der Anwesenheit von CO_2 oder Glucose (Davis 1953) hervorgeht. Ganz allgemein hat sich auch gezeigt, daß das Verhältnis C/N bzw. der N-Bedarf der Zellen die Geschwindigkeit der Nitratreduktion in starkem Maße beeinflußt (Warburg und Negelein 1920, Myers 1949).

Wir sehen damit, daß es für die Wirkung des Lichtes auf die Nitratreduktion grüner Pflanzen offenbar keine einfache Erklärung gibt im Sinne einer Alternative zwischen den eingangs erwähnten verschiedenen Mechanismen. Man wird vielmehr den mannigfachen Aspekten dieses Problems erst dann gerecht, wenn man die Angriffsmöglichkeiten des Lichtes *in ihrer Gesamtheit* berücksichtigt. Dann erscheint dessen Einfluß auf die Nitratreduktion als ein sehr komplexes Phänomen, bestehend aus der Lieferung von H-Donatoren, energiereichem Phosphat und Kohlenstoff-Verbindungen, welche die Teilprozesse der Nitratreduktion in jeweils verschiedener Weise beeinflussen. Schließlich muß man auch mit erheblichen Unterschieden im Verhalten dieser Reaktion selbst bei nahe miteinander verwandten Organismen rechnen (KESSLER 1953b, BONGERS 1956).

Zusammenfassung

1. Nitrit wird von *Ankistrodesmus braunii* im Licht auch bei Abwesenheit von CO_2 unter Stickstoff-Atmosphäre schnell reduziert. Je Mol verarbeiteten Nitrits werden 1,5 Mole O_2 entwickelt.

2. Nitrat wird unter den gleichen Verhältnissen nur sehr langsam reduziert. Die Reaktionsgeschwindigkeit ist in diesem Fall ähnlich wie im Dunkeln unter aeroben Bedingungen und beträgt nur etwa ein Zehntel des im Licht bei Anwesenheit von CO_2 beobachteten Wertes.

3. Die Reduktion von Nitrit im Licht hat einen sehr geringen Temperaturkoeffizienten. Bei Verminderung der Temperatur von 15° C auf 4° C wird die Geschwindigkeit dieser Reaktion nur um etwa 15% herabgesetzt.

4. Die Geschwindigkeit der Nitritreduktion im Licht wird durch CO_2 bzw. Photosynthese bei 15° C etwa verdoppelt; bei 4° C ist die Wirkung von CO_2 dagegen nur gering.

5. Die Nitritreduktion erreicht Lichtsättigung bereits bei etwa 1000 Lux. Sie unterscheidet sich damit wesentlich von Photosynthese und Hill-Reaktion.

6. Die Licht-Nitritreduktion ist weniger empfindlich gegen 2,4-Dinitrophenol als die Nitritreduktion im Dunkeln. Sie wird durch Mangan-mangel stark gehemmt.

7. Der von Hydrogenase enthaltenden Algen unter Stickstoff-Atmosphäre im Schwachlicht entwickelte Wasserstoff kann bei Lichtintensitäten unterhalb von etwa 600 Lux zu einer zusätzlichen Reduktion von Nitrit verwendet werden; bei höherer Beleuchtungsstärke kommt es zur Deadaptation der Hydrogenase infolge von O_2-Entwicklung.

8. Unter Wasserstoff-Atmosphäre findet auch im Licht, unabhängig von der Beleuchtungsstärke, eine Reduktion von Nitrit mit H_2 statt

wie im Dunkeln. Eine Summierung von Licht-Nitritreduktion und Nitritreduktion mit molekularem Wasserstoff ist unter diesen Bedingungen nicht zu beobachten.

9. Bei Zusatz von 2,4-Dinitrophenol findet im Licht auch unter Wasserstoff-Atmosphäre eine Nitritreduktion mit Entwicklung von Sauerstoff statt, da DNP die Reduktion von Nitrit mit H_2 hemmt.

10. Die Wirkung des Lichtes auf die Nitratreduktion grüner Pflanzen wird dahingehend gedeutet, daß die Reaktion Nitrat → Nitrit hauptsächlich indirekt durch photosynthetische Bildung von C-Verbindungen bei Anwesenheit von CO_2 gefördert wird. Die weitere Reduktion des Nitrits scheint demgegenüber enger an photochemische Prozesse gebunden zu sein; neben der Lieferung von H-Donatoren dürfte hier vor allem die Bildung von energiereichem Phosphat durch photosynthetische Phosphorylierung von Bedeutung sein.

Literatur

ALBERTS-DIETERT, F.: Die Wirkung von Eisen und Mangan auf die Stickstoffassimilation von Chlorella. Planta (Berl.) **32**, 88—117 (1941). — ANDREEVA, T. F.: Die Bedeutung der Photosynthese für Nitratreduktion und Eiweißsynthese im Blatt. Dokl. Akad. Nauk SSSR., N. S. **78**, 1033—1036 (1951). — BONGERS, L. H. J.: Aspects of nitrogen assimilation by cultures of green algae. Meded. Landbouwhogeschool Wageningen **56**, 1—52 (1956). — BURSTRÖM, H.: Die Rolle des Mangans bei der Nitratassimilation. Planta (Berl.) **30**, 129—150 (1939). — Photosynthesis and assimilation of nitrate by wheat leaves. Ann. Agricult. Coll. Sweden **11**, 1—50 (1943). — The nitrate nutrition of plants. Ann. Agricult. Coll. Sweden **13**, 1—86 (1945). — CLENDENNING, K. A., and H. C. EHRMANTRAUT: Photosynthesis and Hill reactions by whole Chlorella cells in continuous and flashing light. Arch. of Biochem. **29**, 387—403 (1950). — DAVIS, E. A.: Nitrate reduction by Chlorella. Plant Physiol. **28**, 539—544 (1953). — EVANS, H. J., and A. NASON: Pyridine nucleotide-nitrate reductase from extracts of higher plants. Plant Physiol. **28**, 233—254 (1953). — FAN, C. S., J. F. STAUFFER and W. W. UMBREIT: An experimental separation of oxygen liberation from carbon dioxide fixation in photosynthesis by Chlorella. J. Gen. Physiol. **27**, 15—28 (1943). — FRENKEL, A. W.: Hydrogen evolution by the flagellate green alga, Chlamydomonas moewusii. Arch. of Biochem. a. Biophysics **38**, 219—230 (1952). — GAFFRON, H., and J. RUBIN: Fermentative and photochemical production of hydrogen in algae. J. Gen. Physiol. **26**, 219—240 (1942). — GOOD, N.: Reduction of ferricyanide by algal suspensions. Plant Physiol. **30**, 483—484 (1955). — HARVEY, H. W.: Synthesis of organic nitrogen and chlorophyll by Nitzschia closterium. J. Mar. Biol. Assoc. U. Kingd. **31**, 477—487 (1953). — JONES, L. H., W. B. SHEPARDSON and C. A. PETERS: The function of manganese in the assimilation of nitrates. Plant Physiol. **24**, 300—306 (1949). — KANDLER, O.: Über die Beziehungen zwischen Phosphathaushalt und Photosynthese. I. Phosphatspiegelschwankungen bei Chlorella pyrenoidosa als Folge des Licht-Dunkel-Wechsels. Z. Naturforsch. **5b**, 423—437 (1950). — Über die Beziehungen zwischen Phosphathaushalt und Photosynthese. II. Gesteigerter Glucoseeinbau im Licht als Indikator einer lichtabhängigen Phosphorylierung. Z. Naturforsch. **9b**, 625—644 (1954). — Über die Beziehungen zwischen Phosphathaushalt und Photosynthese. III. Hemmungsanalyse der

lichtabhängigen Phosphorylierung. Z. Naturforsch. **10b**, 38—46 (1955). — Über die Beziehungen zwischen Phosphathaushalt und Photosynthese. IV. Zur Frage einer stöchiometrischen Beziehung zwischen CO_2-Reduktion und Phosphatumsatz. Z. Naturforsch. **12b**, 271—280 (1957). — KESSLER, E.: Über den Mechanismus der Nitratreduktion von Grünalgen. I. Nitritbildung und Nitritreduktion durch Ankistrodesmus braunii (NÄGELI) BRUNNTHALER. Flora (Jena) **140**, 1—38 (1953a). — Über den Mechanismus der Nitratreduktion von Grünalgen. II. Vergleichend-physiologische Untersuchungen. Arch. Mikrobiol. **19**, 438—457 (1953b). — Über die Wirkung von 2,4-Dinitrophenol auf Nitratreduktion und Atmung von Grünalgen. Planta (Berl.) **45**, 94—105 (1955a). — Role of photochemical processes in the reduction of nitrate by green algae. Nature (Lond.) **176**, 1069—1070 (1955b). — Contributions to the problem of photochemical nitrate reduction. In: Research in Photosynthesis, Gatlinburg Symposium, 1955. Im Druck. — Stoffwechselphysiologische Untersuchungen an Hydrogenase enthaltenden Grünalgen. I. Über die Rolle des Mangans bei Photoreduktion und Photosynthese. Planta (Berl.) **49**, 435—454 (1957a). — Stoffwechselphysiologische Untersuchungen an Hydrogenase enthaltenden Grünalgen. II. Dunkel-Reduktion von Nitrat und Nitrit mit molekularem Wasserstoff. Arch. Mikrobiol. **27**, 166—181 (1957b). — KOK, B.: Photo-induced interactions in metabolism of green cells. In: Carbon dioxide fixation and photosynthesis, p. 211—221. Cambridge Univ. Press 1951. — KYLIN, A.: The nitrogen sources and the influence of manganese on the nitrogen assimilation of Ulva lactuca. Förh. Kungl. Fysiogr. Sällsk. Lund **15**, 27—35 (1945). — MEDINA, A., and D. J. D. NICHOLAS: Hyponitrite reductase in Neurospora. Nature (Lond.) **179**, 533—534 (1957). — MENDEL, J. L., and D. W. VISSER: Studies on nitrate reduction in higher plants. I. Arch. of Biochem. a. Biophysics **32**, 158—169 (1951). — MYERS, J.: The pattern of photosynthesis in Chlorella. In: Photosynthesis in plants, p. 349—364. Ames, Iowa 1949. — NASON, A.: Enzymatic steps in the assimilation of nitrate and nitrite in fungi and green plants. In: Inorganic nitrogen metabolism, p. 109—136. Baltimore 1956. — NASON, A., R. G. ABRAHAM and B. C. AVERBACH: The enzymic reduction of nitrite to ammonia by reduced pyridine nucleotides. Biochim. et Biophysica Acta **15**, 160—161 (1954). — NICHOLAS, D. J. D.: Role of metals in enzymes with special reference to flavoproteins. Nature (Lond.) **179**, 800—804 (1957). — NICHOLAS, D. J. D., and A. NASON: Molybdenum and nitrate reductase. II. Molybdenum as a constituent of nitrate reductase. J. of Biol. Chem. **207**, 353—360 (1954). — NICHOLAS, D. J. D., and J. H. SCAWIN: A phosphate requirement for nitrate reductase from Neurospora crassa. Nature (Lond.) **178**, 1474—1475 (1956). — NIEL, C. B. VAN: The bacterial photosyntheses and their importance for the general problem of photosynthesis. Adv. Enzymol. **1**, 263—328 (1941). — NIEL, C. B. VAN, M. B. ALLEN and B. E. WRIGHT: On the photochemical reduction of nitrate by algae. Biochim. et Biophysica Acta **12**, 67—74 (1953). — RABINOWITCH, E. I.: Photosynthesis and related processes, Vol. I. New York: Interscience Publ. 1945. — SCHIMPER, A. F. W.: Über Kalkoxalatbildung in den Laubblättern. Bot. Ztg **46**, 65—153 (1888). — SCHWARTZ, M.: The reduction of ferricyanide by living Chlorella cells. Arch. of Biochem. a. Biophysics **63**, 201—211 (1956). — SHUG, A. L., P. W. WILSON, D. E. GREEN and H. R. MAHLER: The role of molybdenum and flavin in hydrogenase. J. Amer. Chem. Soc. **76**, 3355—3356 (1954). — SMITH, J. H. C., and A. BENITEZ: The effect of temperature on the conversion of protochlorophyll to chlorophyll a in etiolated barley leaves. Plant Physiol. **29**, 135—143 (1954). — STOY, V.: Action of different light qualities on simultaneous photosynthesis and nitrate assimilation in wheat leaves. Physiol. Plantarum (Copenh.) **8**, 963—986 (1955). — Riboflavin-catalyzed enzymic photoreduction of nitrate. Biochim.

et Biophysica Acta **21**, 395—396 (1956). — STREHLER, B. L.: Firefly luminescence in the study of energy transfer mechanisms. II. Adenosine triphosphate and photosynthesis. Arch. of Biochem. a. Biophysics **43**, 67—79 (1953). — VANECKO, S., and J. E. VARNER: Studies on nitrite metabolism in higher plants. Plant Physiol. **30**, 388—390 (1955). — WARBURG, O.: Photochemische Reduktion von Chinon in grünen Zellen und Granula. Kap. 20 in: Schwermetalle als Wirkungsgruppen von Fermenten, 2. Aufl. Berlin: Dr. Werner Saenger 1948. — WARBURG, O., u. G. KRIPPAHL: Photochemische Wasserzersetzung durch lebende Chlorella. Z. Naturforsch. **10**b, 301—304 (1955). — WARBURG, O., u. E. NEGELEIN: Über die Reduktion der Salpetersäure in grünen Zellen. Biochem. Z. **110**, 66—115 (1920). — WHATLEY, F. R., M. B. ALLEN and D. I. ARNON: Photosynthetic phosphorylation as an anaerobic process. Biochim. et Biophysica Acta **16**, 605—606 (1955). — YOSHIMURA, F.: Influence of the light on the consumption of nitrate and ammonia in lemnaceous plants. Bot. Mag. (Tokyo) **65**, 176—185 (1952).

Dr. ERICH KESSLER, Botanisches Institut der Universität, Marburg/Lahn, Pilgrimstein 4

Planta, Bd. 49, S. 524—560 (1957)

Aus dem Botanischen Institut der Universität München

ÜBER DEN EINFLUSS KLIMATISCHER FAKTOREN AUF DEN BLATTFARBSTOFFGEHALT HÖHERER PFLANZEN

Von

ACHIM HAGER

Mit 5 Textabbildungen

(Eingegangen am 27. April 1957)

Während WILLSTÄTTER u. STOLL in grünen Pflanzen das Mengenverhältnis Chlorophyll a : Chlorophyll b mit ungefähr 3 und das Verhältnis Xanthophyll : Carotin mit 1,5—2 als normalerweise konstant bezeichnet hatten, wurden später Schwankungen dieser Verhältnisse und damit Schwankungen in der Konzentration der Blattfarbstoffe festgestellt (RUDOLPH 1934). SEYBOLD u. EGLE (1937) deuteten sie als eine Anpassung, eine chromatische Adaptation des Farbstoffapparates an die jeweilige verschiedene spektrale Zusammensetzung des Standortlichtes. Eine solche Einteilung der Pflanzen in „lichtökologische Typen" war aber nicht befriedigend, denn MONTFORT (1942—1953) konnte in ein und demselben Lichtfeld unter den sog. „Sonnen-Pflanzen" solche Arten finden, die eine starke Ausbleichung der Blätter erkennen ließen, und andere, bei denen keine oder nur eine geringe Abnahme der Chlorophylle festzustellen war. Er unterschied deshalb zwischen photolabilen und photostabilen Reaktionstypen, die durch Übergänge miteinander verbunden sind.

Neben anderen Untersuchungen (z. B. SIMONIS 1939) wurden in dieser Hinsicht besonders Farbstoffanalysen an Wiesenpflanzen im Voralpenland von Bedeutung (BUKATSCH u. HAUBOLD 1951, HEUER 1952). Bei ihnen waren beträchtliche Schwankungen der Carotinwerte je nach Höhenlage und Exposition der Felder nachzuweisen (was sich sogar in den Vitamin A-Beträgen der dortigen Milch- und Buttererzeugnisse widerspiegelte).

Da die genannten Arbeiten eine Veränderung der relativen wie absoluten Mengen der Chloroplasten-Farbstoffe ergeben haben, war zu untersuchen, wie hoch diese Schwankungen sind (auch bei den Carotinoiden), welche Ursache sie haben, ob sie tatsächlich durch äußere, d. h. klimatische Einflüsse hervorgerufen werden, und dann, welcher der Klimafaktoren wirksam ist, und wie er auf das Stoffwechselgeschehen innerhalb der Zelle einwirkt und es verändert.

I. Klimatisch bedingte Pigmentunterschiede im Blatt von *Veratrum album*

Da die Menge der Blattfarbstoffe durch Bodenart, Bodenfeuchtigkeit, pH-Wert, Nährstoffgehalt, die genetischen Komponenten, das Alter usw.

beeinflußt werden kann, lassen sich eventuelle Pigmentunterschiede zweier Pflanzen, die an verschiedenen Standorten gewachsen sind, nicht mehr eindeutig auf klimatische Ursachen zurückführen.

Solche Standortseinflüsse konnten ausgeschaltet werden, da es trotz des kleineren Vergleichsraumes möglich war, noch mikroklimatische Unterschiede an ein- und demselben Blatt zu finden, und zwar beim Germer, *Veratrum album*, mit seinen großflächigen, der Länge nach mehrmals gefalteten Blättern (s. Abb. 1).

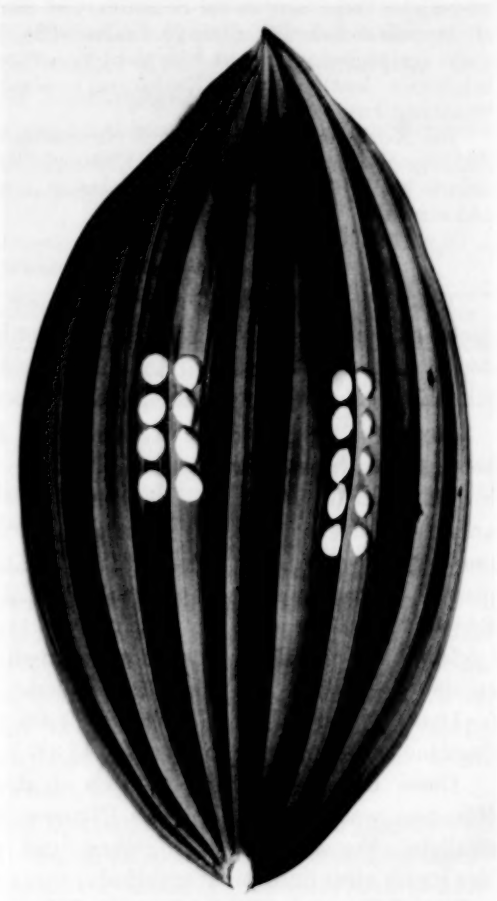


Abb. 1. Blatt von *Veratrum album* mit Stanzlöchern in den sonnenzu- und -abgewandten Streifen

Bei einer bestimmten Stellung des Blattes lassen sich Streifen finden, die mit ihrer Fläche nach Norden, andere die nach Süden zu gerichtet sind. Man kann bei diesen verschieden exponierten Blatteilen (nach einer Beobachtung von BUKATSCH) schon mit bloßem Auge im auffallenden, wie im durchfallenden Licht eine starke Unterschiedlichkeit in der Grünfärbung feststellen. Solche Blattstreifen, die mehr oder weniger nach Süden gerichtet sind, sehen gelblich aus im Vergleich zu den im Schatten sich befindenden, nordwärts gerichteten tiefgrünen (Abb. 1). Dieser Effekt wird nach Schönwetterperioden besonders deutlich.

Neben der Annahme, daß sich ein solcher, nennen wir ihn „Sonneneffekt", in strahlungsbegünstigten Gegenden, etwa im Gebirge, besser auswirken muß als im Flachlande, war das Vorhandensein einer praktisch unbegrenzten Anzahl von Versuchspflanzen die Veranlassung, die Untersuchungen zunächst auf dem Schachen bei Garmisch (1860 m ü. d. M.) durchzuführen.

1. Methodik

Für die Analyse wurden mit einem Korkbohrer (⌀ 0,66 cm) je 40 Scheibchen eines „gelben" Streifens und des unmittelbar daneben liegenden „grünen" Streifens

ausgestanzt (Abb. 1). Der Farbstoffgehalt für „Gelb" und „Grün" wurde pro Flächeneinheit verglichen, was den Vorteil gegenüber frisch- und trockengewichtsbezogenen Werten hat, unabhängig von Hydratur-Schwankungen und Schwankungen des Gewichtes der Zellsubstanz zu sein (s. auch NAGEL 1940). Eine unterschiedliche Dicke, wie sie bei Schatten- und Sonnenblättern auftritt (letztere sind oft doppelt so dick wie erstere; s. STAHL 1883), die die flächenbezogenen Analysenwerte verfälschen würde, ist hier nicht zu befürchten, da das Blatt erst nach vollkommener Ausbildung und Entfaltung in einer einigermaßen fixierten Lage der Strahlung ausgesetzt ist.

Die Konzentrationen des durch chromatographische Analyse nach BUKATSCH (1951) gewonnenen Chlorophylls a, Chlorophylls b und Carotins wurden im lichtelektrischen Kolorimeter gemessen, das an eine Autobatterie von 135 Ah angeschlossen war.

2. Ergebnisse

Die sehr *Veratrum*-reichen Almwiesen am Schachen sind bei unbedecktem Himmel mit Ausnahme des frühen Morgens den ganzen Tag der Sonnenstrahlung ausgesetzt, so daß genügend Versuchsmaterial mit einem deutlichen „Gelb-grün"-Effekt zu finden war.

Daß es sich dabei nicht etwa um eine Plastidenwanderung handelte, bei der die linsenförmigen Chloroplasten während starker Belichtung reversibel an die senkrecht zur Oberfläche stehenden Zellwände wandern und das Blatt infolgedessen heller und gelblich erscheinen lassen, sondern um eine Veränderung der Farbstoff-Zusammensetzung der Chloroplasten, zeigen die Analysenergebnisse (Durchschnittswerte von sechs Serien):

In den stark dem Licht ausgesetzten Blatteilen war im Vergleich zu den Schattenteilen eine weitgehende Abnahme von Chlorophyll a (—16,6%) und Chlorophyll b (—14,4%) festzustellen, während die Carotine vermehrt erschienen (+12,8%).

Diese Ergebnisse konnten auch an den im Botanischen Garten zu München wachsenden *Veratrum*-Pflanzen bestätigt werden. Die gegensätzliche Verschiebung der gelben und grünen Pigmentmengen war hier (nach einer Schönwetterperiode) sogar noch größer als bei den untersuchten Pflanzen am Schachen. Dabei waren, wenn man die Farbstoffmengen des Schattenteiles mit 100% bezeichnet, die beiden Chlorophylle um ungefähr je 33% abgesunken, also auf 67%, während die Carotine sich gewichtsmäßig um ungefähr 23% vermehrt hatten.

Diese Analysenergebnisse bedürfen aber noch einer Erläuterung insofern, als sich später herausstellte, daß die Erhöhung des Carotinwertes in den sonnenzugewandten Blatteilen durch eine nur dort vorkommende Carotinoid-Komponente hervorgerufen wird, die im Chromatogramm als sehr schwer sichtbare gelbe Zone unterhalb der epiphasischen Xanthophylle auftritt. Rechnet man diesen gelben Farbstoff zu den Carotinen und läßt ihn gleich beim Trennungsvorgang mit in das Auffanggefäß

tropfen, erscheint der Carotinwert der „Sonnen"-Blatteile erhöht. Da es sich aber wahrscheinlich um das im Papierchromatogramm mit X_0 bezeichnete Carotinoid handelt (HAGER 1957), das — nach seiner dortigen Lokalisation zu schließen — ein noch nicht vollständig zu einem Xanthophyll oxydiertes Carotin darstellt und als Zwischenstufe bei den photooxydativen Veränderungen (s. unten) jeweils in verschiedenem Maße auftritt, wird es besser zu den Xanthophyllen gezählt.

Dies geschah auch bei einer nochmaligen Untersuchung von *Veratrum*-Pflanzen (mit einer neuen Analysenmethode, s. HAGER 1957), bei der die Xanthophylle mit erfaßt wurden (Tabelle 1).

Tabelle 1. *Vergleich der Pigmentmengen sonnenzu- und -abgewandter Blatteile von Veratrum album; bezogen auf gleiche Blattfläche*

	Schatten %	Sonne %		Schatten %	Sonne %
Chlorophyll a	100	58,4	Xanthophyll[1]	100	106,0
Chlorophyll b	100	53,8	Neoxanthin .	100	59,1
Carotin . . .	100	71,7			

[1] Unter Xanthophyll sind die im Chromatogramm beieinanderliegenden Carotinoide Lutein und Violaxanthin, sowie gegebenenfalls (dazwischen) Zeaxanthin und Xanthophyllepoxyd zusammengefaßt.

Ähnliche Pigmentverhältnisse fanden sich dann bei *Ranunculus ficaria*, dessen Sonnen-Blätter ebenfalls gelblicher erschienen als die dunkelgrünen Schatten-Blätter, aber 20% weniger Carotin besaßen. Bei den großen Blattspreiten einer *Musa Cavendishii* enthielt der südwärts gerichtete Blatteil von dem mit 100% angenommenen Carotingehalt der Nordseite nur mehr 72,4%, während der Xanthophyllgehalt (epi- und hypophasische Xanthophylle zusammen betrachtet) ähnlich wie bei *Ranunculus ficaria* erhöht war.

Das heißt aber mit anderen Worten, daß eine Vermehrung des Carotins in sonnenzugewandten Blatteilen oder den Sonnenblättern nur dann festzustellen ist, wenn bereits oxydierte oder isomere Komponenten mit zugerechnet werden, daß aber reines β-Carotin bei starker Sonnenstrahlung ebenso wie die Chlorophylle abnimmt.

3. Zusammenfassung

Die vergleichenden Pigmentuntersuchungen an Blatteilen haben ergeben, daß es Farbstoffveränderungen auf kleinstem Raume gibt, die lediglich durch klimatische Faktoren bedingt sind, wobei durch die Sonneneinstrahlung eine starke Abnahme der grünen Farbstoffe und, abgesehen vom β-Carotin, eine Zunahme der gelben Pigmente zu beobachten ist, also eine Verschiebung des Verhältnisses der grünen zu den gelben Farbstoffen.

Es war nun die Aufgabe, herauszufinden, welcher Faktor aus dem Komplex der Sonnenstrahlung eine solche Veränderung bewirkt. Es könnten daran die Temperatur oder die Lichtqualität (also der verschiedene spektrale Anteil des „Nord"- und „Süd"-Lichtes) oder die Intensität der Strahlung beteiligt sein.

II. Temperatur-Einfluß auf den Farbstoffgehalt grüner Pflanzen

Die der Sonne zugewandten Blatteile oder eben alle Pflanzen eines Südhanges werden durch die einfallende Strahlung stärker erwärmt als die Schattenteile. Die Frage lautet deshalb: Ist es möglich, daß die oben angeführten Pigmentveränderungen nur durch den Temperaturunterschied hervorgerufen werden?

Da es dann gleichgültig ist, ob die Pflanzen durch direkte Strahlung oder allgemein durch die umgebende Luft erwärmt werden, haben wir die Versuche in verschieden temperierten Kammern durchgeführt.

Wie wir später sehen werden (Kap. IV, 5), ist das Verhalten der Blattfarbstoffe in den meisten höheren Pflanzen gegenüber äußeren Einflüssen gleichartig oder nur graduell verschieden. Das gab uns das Recht, für die Laboratoriumsversuche die in größeren Mengen verfügbaren und schneller wachsenden *Avena*-Pflanzen zu verwenden.

1. Methodisches

Genetisch einheitlicher Weißhafer (Svalöfs Sonnen II) wurde in Entwicklerschalen ausgesät und keimte im Gewächshaus aus. Sobald das Primärblatt 8 bis 10 cm groß war, wurden die Pflanzen in die verschiedenen Temperaturkammern eines Brückenthermostaten gebracht. Eine gleichmäßige Ausleuchtung der Kammern wurde durch Leuchtstoffröhren (Philips TL 40 W/33 Tageslicht) erzielt. Kleine Ventilatoren verhinderten eine Temperaturschichtung der Luft in den Kammern.

Da es bei Beleuchtung nicht gelang, eine Kammer des Brückenthermostaten tiefer als 15° C abzukühlen, wurde ein Kompressor-Kühlschrank mit Leuchtstoffröhren versehen, welcher dann als Kammer für tiefe Temperaturen (5° C) fungierte. Zur Gleicherhaltung der Temperatur war in diesem Falle ein besonderer Thermoregulator nötig. Die Lichtintensität hatte hier selbstverständlich genau die gleiche Höhe wie in den anderen Kammern.

Die Mengenbestimmung der Blattfarbstoffe erfolgte mit Hilfe der Säulenchromatographie (s. HAGER 1957). Da es bei den Versuchen nur auf einen Vergleich der Farbstoffmengen ankam, wurden die Extinktionswerte in willkürliche Gewichtseinheiten umgerechnet. Dies geschah nach Eichkurven, welche durch Messung stufenweise verdünnter Pigment-Lösungen aufgestellt wurden.

2. Wirkung konstanter Nachttemperatur und veränderter Tagestemperatur

Die südwärts und nordwärts gerichteten Blatteile eines *Veratrum*-Blattes dürften nachts ein und dieselbe Temperatur haben; am Tage aber tritt ein Unterschied dann ein, sobald direkte Sonnenstrahlung das Blatt trifft. Verändern wir in unserem Versuch die Tagestemperatur und lassen die Nachttemperatur konstant, so haben wir gleichsam ein Modell für die Temperatur-Abläufe in der Pflanze.

Die *Avena*-Pflanzen wurden 8 Stunden (nachts) in einem dunklen Raum bei ungefähr 18° C gehalten und dann 16 Stunden (Tag) in die

beleuchteten Temperaturkammern gestellt mit den Abstufungen 5°, 15°, 25°, 30° C.

Schon äußerlich erschienen die etwas kleineren 5°-Pflanzen nicht so tief-grün und mehr gelblich gegenüber den bei höherer Temperatur gezogenen Pflanzen.

Tabelle 2 gibt die nach 8tägiger unterschiedlicher Temperatureinwirkung gefundenen Farbstoff-Mengen (Durchschnitt von 6 Serien) wieder.

Tabelle 2. *Blattfarbstoffgehalt von Avena-Pflanzen nach 8tägiger Einwirkung verschiedener Tagestemperaturen und konstanter Nachttemperatur (18° C)*

Tag °C	25° %	15° %	5° %	25° %	15° %	5° %
Chlorophyll a	100	96,1	79,0	100	87,8	62,5
Chlorophyll b	100	96,6	73,4	100	88,6	57,8
Carotin	100	99,0	87,0	100	91,6	68,8
Xanthophyll.	100	97,3	105,3	100	89,1	82,6
Neoxanthin	100	90,6	86,3	100	83,1	68,6
	bezogen auf Frischgewicht			bezogen auf Trockengewicht		

Es läßt sich deutlich erkennen, daß nicht nur das Chlorophyll a und das Chlorophyll b, sondern auch das Carotin und das Neoxanthin bei abfallender Temperatur stark abnehmen, das Xanthophyll aber vermehrt wird oder zumindest, bei trockengewichtsbezogenen Werten, nicht in dem Maße vermindert wird.

Oder anders ausgedrückt, die Pigmentmengen steigen mit zunehmender Temperatur stark, das Xanthophyll weniger stark an. Das Maximum liegt bei den *Avena*-Pflanzen zwischen 25 und 30° C. Die Ergebnisse bei höheren Temperaturen sind nicht mit angeführt, da sie z. T. durch unnatürliche Wachstumsbedingungen der Pflanzen verfälscht worden sind. Die dünne Erdschicht in den Schalen erwärmte sich zu stark, so daß die Wurzeln in Mitleidenschaft gezogen worden sind.

Erinnert man sich jetzt wieder der Farbstoffveränderungen an den stark bestrahlten, also auch stark erwärmten Teilen der *Veratrum*-Blätter und vergleicht damit die bei höheren Temperaturen im Thermostaten gewachsenen Pflanzen, so ist keine Übereinstimmung zu finden. Im Gegenteil, beim „Sonnen"-Germer nehmen Chlorphyll a, Chlorophyll b und das Carotin ab, das Xanthophyll aber zu; hier ist es nahezu umgekehrt: die Chlorophylle a und b und das Carotin nehmen stark, das Xanthophyll schwach zu.

Es kann sich also bei den Farbstoff-Veränderungen durch Sonnenstrahlung in der Hauptsache nicht um einen einfachen Temperatureffekt handeln.

Es war jetzt noch wichtig, den Einfluß veränderter Nachttemperatur auf den Pigmentgehalt zu prüfen, um so mehr, als solche Temperaturdifferenzen auch in der freien Natur einen möglichen Einfluß auf den Pigmentspiegel haben könnten; denken wir nur an die nächtlichen Kaltluftseen in Talniederungen im Vergleich zu den wärmeren Hanglagen.

3. Wirkung veränderter Nachttemperatur bei konstanter Tagestemperatur

Am Tage (16 Stunden) wurden die zunächst im Gewächshaus bis 10 cm Größe herangezogenen Hafer-Pflanzen im Licht von Leuchtstofflampen (6000 Lux) bei einer Temperatur von 18° gehalten. Nachts (8 Stunden) wurden sie auf die verschiedenen unbeleuchteten Temperaturkammern verteilt (5°, 15°, 25° C).

Die 5°-Pflanzen waren nach $8^1/_2$ Tagen etwas kleiner geblieben als die 25°-Pflanzen. Es waren bei jenen deshalb mehr Pflanzen notwendig, um eine Einwaage von 3 g zu erreichen. Wie Tabelle 3 zeigt, ist deshalb die auf das Frischgewicht bezogene Menge der Chloroplasten-Pigmente bei den 5°-Pflanzen höher als bei den 25°-Pflanzen.

Beziehen wir aber die Farbstoffmengen auf gleiches Trockengewicht, so ist der Farbstoffgehalt in allen Pflanzen nahezu gleich, unabhängig davon, bei welcher Nachttemperatur sie gewachsen sind.

Tabelle 3. *Blattfarbstoffgehalt von Avena-Pflanzen nach $8^1/_2$tägiger Einwirkung verschiedener Nachttemperaturen bei konstanter Tagestemperatur (18° C)*

Nacht °C	bezogen auf Frischgewicht			bezogen auf Trockengewicht		
	25° %	15° %	5° %	25° %	25° %	15° %
Chlorophyll a	100	98,6	122,1	100	98,6	97,5
Chlorophyll b	100	98,0	120,8	100	98,3	97,3
Carotin	100	99,1	122,0	100	98,7	97,4
Xanthophyll	100	102,0	119,5	100	101,2	95,3
Neoxanthin	100	102,0	122,8	100	101,2	98,3

Ein Rückblick auf die gesamten Temperaturversuche zeigt eindeutig, daß ein Einfluß auf den absoluten, trockengewichtsbezogenen Pigmentspiegel sich nur bei Einwirkung von Licht bemerkbar macht, also am Tage. — Die möglichen Ursachen werden weiter unten besprochen.

4. Praktische Bedeutung der Temperatureffekte

Für den Wert eines pflanzlichen Nahrungsmittels ist die Menge an Provitamin A, welche in unseren Analysen als Carotin mit bestimmt wurde, von besonderer Bedeutung. Die durch unterschiedliche Temperatur verursachten Mengenschwankungen werden besonders deutlich, wenn wir den Carotingehalt auf das in der Praxis allein wichtige Frischgewicht beziehen; in diesem Falle ist auch die Nachttemperatur von Wichtigkeit:

Je nach den vorangegangenen nächtlichen Wachstumsbedingungen (Gewächshaustemperaturen) kann in einer bestimmten Menge Gemüse bzw. Futterpflanzen einmal viel und einmal wenig Provitamin A enthalten sein. Ziehen wir noch die Tagestemperaturen in Betracht, so ist ein optimaler Farbstoffgehalt und damit Carotingehalt (bezogen auf Fläche oder Frischgewicht) dann festzustellen, wenn die Nachttemperaturen tief und die Tagestemperaturen hoch waren.

III. Einfluß der einzelnen Spektralfarben auf den Farbstoffgehalt

1. Bisherige Untersuchungen

Seybold (1936) hat die Intensität der Himmelsstrahlung im gesamten sichtbaren Spektralbereich gemessen und den relativ sehr viel größeren Blauanteil der diffusen Strahlung in Nordrichtung im Vergleich zur direkten Sonnenstrahlung nachgewiesen. Es war daher zu untersuchen, ob diese unterschiedliche spektrale Zusammensetzung des Lichtes die Pigmentverschiebungen bei den sonnenzu- und -abgewandten Blatteilen von *Veratrum* hervorrufen.

Eine Reihe von Autoren (Harder 1923; Harder, Simonis u. Bode 1938; Seybold u. Egle 1937 und 1938 und Egle 1937) schrieben den Unterschieden des Standortlichtes auch tatsächlich Veränderungen im Pigmentgehalt der Pflanzen zu.

Inwieweit bei unseren Befunden an *Veratrum* eine solche „chromatische Adaptation" der Farbstoffe beteiligt ist, muß sich zeigen lassen, wenn Pflanzen in vollkommen spektralreinem Licht gehalten werden, und dann der Pigmentgehalt bestimmt wird.

Es liegen freilich schon eine Reihe von Arbeiten vor, die sich mit dem Einfluß verschiedener Farben auf die Farbstoffbildung bei etiolierten und dann ins Licht gebrachten Keimlingen befassen. Daraus ließen sich wohl auch Schlüsse auf den Einfluß von farbigem Licht auf die fertig ausgebildeten Chloroplasten-Farbstoffe ziehen, wenn nicht die widersprechenden Ergebnisse eine Deutung recht schwierig machen würden.

So fand z. B. Rudolph (1934), daß die Carotinoide im blauen Licht schneller gebildet werden als im roten Licht, und Simonis (1939) gab an, daß in *Elodea*-Blättern, die in rotem Licht gewachsen waren, das Verhältnis $a+b/x+c$ um 23% größer war als in Pflanzen, welche in Blaulicht gewachsen waren. Dagegen stellte Strott (1938) fest, daß nicht nur die Chlorophylle sondern auch die Carotinoide am schnellsten und stärksten im Rot, schwächer im Grün und am schwächsten im Blau gebildet würden (Sayre hat ähnliche Verhältnisse bei den Chlorophyllen schon 1928 gefunden). Das endgültige Verhältnis a/b und $c+x/a+b$ sei aber unabhängig von der Lichtqualität. Ebenso fanden Seybold und Egle (1938), daß eine Veränderung der Quotienten a/b und x/c in den einzelnen Spektralbereichen nicht stattfindet; sie hielten aber trotzdem eine Wirkung qualitativ verschiedener Lichtfelder auf die Quotienten der Pigment-Komponenten für möglich.

Das mag genügen, um die Uneinheitlichkeit der bisherigen Befunde vor Augen zu führen.

2. Methodisches

Die Lichtquellen für die Farbversuche mußten neben großer Spektralreinheit noch eine für das Pflanzenwachstum ausreichende Strahlungsintensität besitzen und außerdem eine hinreichend große Fläche ausleuchten können, daß es möglich war, genügend viel Analysenmaterial heranzuziehen.

Als für diesen Zweck geeignet erwiesen sich farbige, normalerweise für Reklamezwecke benützte Leuchtstofflampen der Fa. Philips. Die Röhren wurden in der folgenden Zusammensetzung in Aluminium-Reflektoren eingebaut:

je 5 Leuchtstofflampen Rot (TL 40 W/15)
je 4 Leuchtstofflampen Gelb (TL 40 W/16)
je 6 Leuchtstofflampen Grün (TL 40 W/17)
je 6 Leuchtstofflampen Blau (TL 40 W/18)
je 4 Leuchtstofflampen Tageslicht (TL 40 W/33)
je 2 Leuchtstofflampen TL UV/40 W

Länge der Röhren 120 cm.

Jedes Lampenaggregat beleuchtete in den Kammern eine Fläche von 100 mal 35 cm.

Da die Farben der Leuchtstofflampen teilweise nicht spektralrein waren, vor allem noch Spektrallinien aus entfernteren Bereichen emittierten, waren Filter notwendig: Die blauen und gelben Lampen wurden mit Signalglas „Blau" bzw. „Orange" (Fa. Schöninger, München, Dachauer Straße) versehen, das Spektrum der grünen wurde mit einer Cellonfolie „Grün" (Fa. Menzel, München, Schützenstraße) eingeengt. Um die freilich sehr geringe UV-Abstrahlung auch bei den „Rot"- und „Tageslicht"-Lampen abzufangen, wurden Glasplatten verwendet.

Die Abb. 2 zeigt die relative spektrale Energieverteilung in der ungefilterten Strahlung der Leuchtstofflampen (gestrichelte Linie) und, wo notwendig, nach Zusatz der Filter (ausgezogene Linie). Daraus ist ersichtlich, daß der Bereich vom sichtbaren Rot bis zum langwelligen UV verhältnismäßig gut unterteilt werden konnte.

Die auf die Pflanzen eingestrahlte Energie der einzelnen Farben wurde mit Hilfe einer spektralgeeichten Selen-Photozelle gemessen (die verfügbaren Thermoelemente erwiesen sich für die Messung als zu wenig empfindlich).

Die einzelnen Lampenaggregate wurden jetzt in ihrer Höhe so eingestellt, daß auf der Tischebene für alle Energiegleichheit herrschte.

Lediglich in der Kammer der Leuchtstofflampen „Tageslicht" war die Intensität höher (etwa 6000 Lux) und zwar um den Betrag, welcher durch den blauen und grünen Spektralanteil der Lampen bedingt wird (unter einem Rotfilter hätte also Energiegleichheit zu den anderen Kammern geherrscht).

Die Aussaat des Hafers (Svalöfs Sonnen II) erfolgte in Erde in Fulgurit-Blumenkästen. Dort keimte er entweder im farbigen Licht (Versuchsreihe I, nur anfänglich angewendet, da die Ergebnisse sich von denen bei II nicht unterschieden), oder im gewöhnlichen Weißlicht des Gewächshauses (Versuchsreihe II), bis die Pflanzen eine Höhe von 12—15 cm erreicht hatten.

Die Beleuchtungsdauer in den Farblichtkammern war mit 16 Stunden dem Langtag angepaßt. Eine Temperaturschwankung durch den Tag-Nacht-Rhythmus,

die freilich in allen Kammern gleich groß war, ließ sich nicht vermeiden; sie betrug maximal 6° C. Die relative Luftfeuchtigkeit wurde mit 60—90% gemessen. Zur Blattfarbstoffbestimmung siehe Kapitel II, 1.

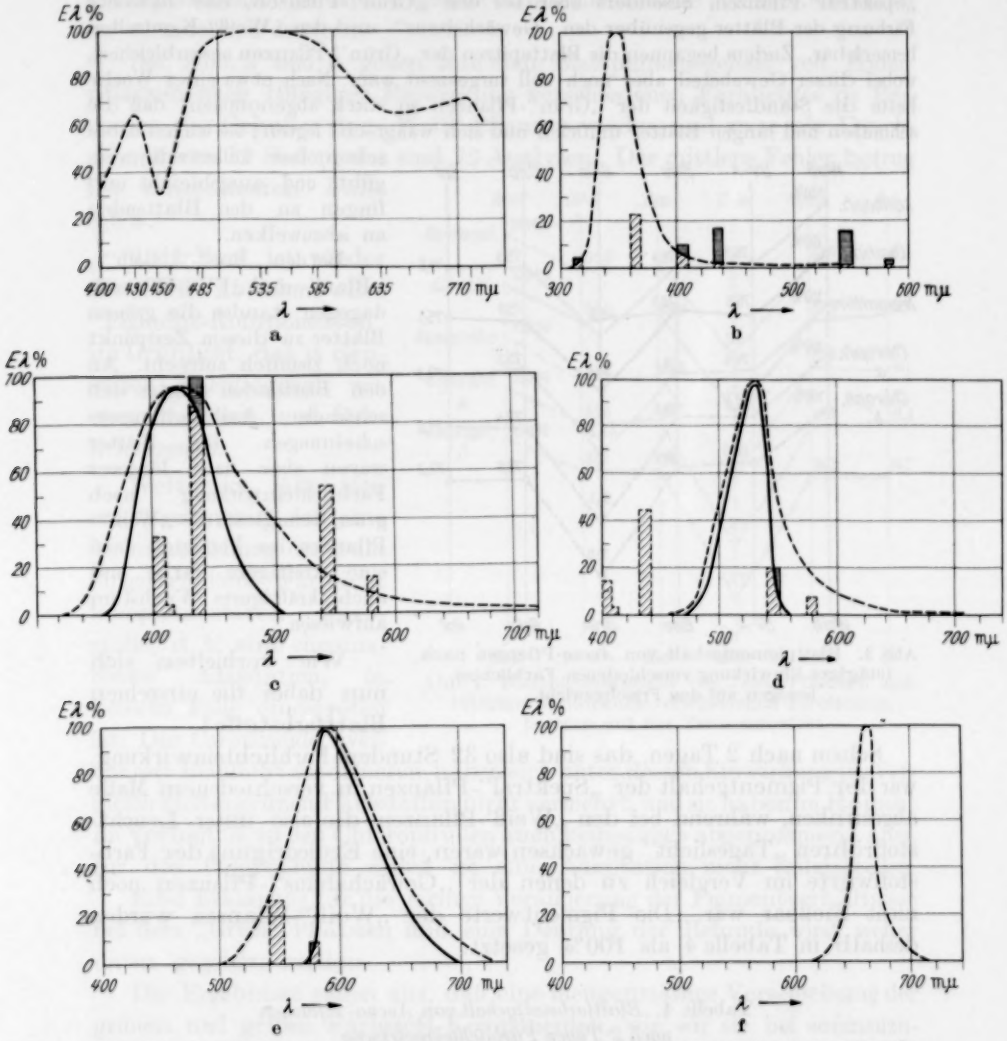


Abb. 2 a—f. Relative spektrale Energieverteilung in den Lichtkammern (nach Angaben der Fa. Philips, verändert); ---- ungefilterte Strahlung der Leuchtstofflampen, ■ Spektrallinien; —— gefilterte Strahlung, ▤ wirksam bleibende Spektrallinien
a „Tageslicht", Leuchtstofflampen TL/55, kein Filter; b „UV-A", Leuchtstofflampen TL/UV, kein Filter; c „Blau", Leuchtstofflampen TL/18, Filter: Signalglas Blau; d "Grün" Leuchtstofflampen TL/17, Filter: Cellon Grün; e „Gelb", Leuchtstofflampen TL/16, Filter: Signalglas Orange; f „Rot", Leuchtstofflampen TL/15, kein Filter

3. Ergebnisse

Bevor wir die Durchschnittswerte aller Analysen betrachten, sei ein einzelner Versuch als Beispiel herausgewählt. Am 30. 6. wurde Weißhafer (Svalöfs Sonnen II) ausgesät und ins Gewächshaus gebracht. Die 20 Tage alten und ungefähr 12—14 cm

großen Keimpflanzen wurden dann in die Kammern mit „Weiß-Licht", UV-A- (λ_{max} 350 mμ), Blau- (λ_{max} 425), Grün- (λ_{max} 528), Gelb- (λ_{max} 599) und Rot- (λ_{max} 655) Licht aufgeteilt. Schon nach einigen Tagen machte sich bei allen „Spektral"-Pflanzen, besonders aber bei den „Grün"-Pflanzen, eine bleichere Färbung der Blätter gegenüber den „Gewächshaus"- und den „Weiß"-Kontrollen bemerkbar. Zudem begannen die Blattspitzen der „Grün"-Pflanzen auszubleichen, wobei dieser Gewebeteil aber noch voll turgeszent war. Nach etwa einer Woche hatte die Standfestigkeit der „Grün"-Pflanzen so stark abgenommen, daß die schmalen und langen Blätter umfielen und sich waagrecht legten; sie waren dabei schon fast vollständig vergilbt und ausgebleicht und fingen an den Blattenden an abzuwelken.

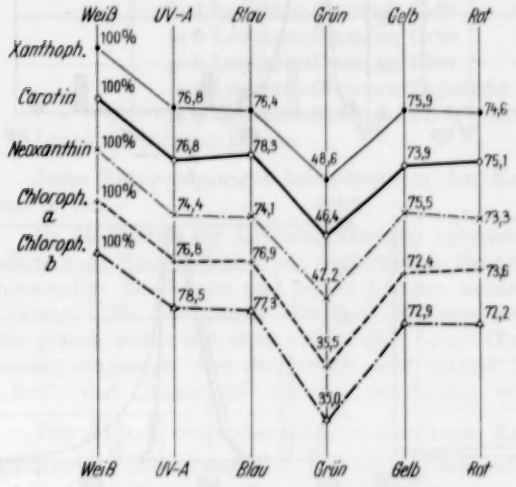


Abb. 3. Blattpigmentgehalt von *Avena*-Pflanzen nach 10tägiger Einwirkung verschiedenen Farblichtes, bezogen auf das Frischgewicht

Bei den „Rot"-, „Gelb"-, „Blau"- und „UV"-Pflanzen dagegen standen die grünen Blätter zu diesem Zeitpunkt noch ziemlich aufrecht. An den Blattenden zeigten sich schwache Ausbleichungserscheinungen. Die Blätter waren aber nach längerer Farblichteinwirkung noch grün, wenngleich die „Weiß"-Pflanzen im Vergleich dazu eine kräftigere Farbe und auch kräftigeres Wachstum aufwiesen.

Wie verhielten sich nun dabei die einzelnen Blattfarbstoffe?

Schon nach 2 Tagen, das sind also 32 Stunden Farblichteinwirkung, war der Pigmentgehalt der „Spektral"-Pflanzen in verschiedenem Maße abgesunken, während bei den „Weiß'-Pflanzen, die also unter Leuchtstoffröhren „Tageslicht" gewachsen waren, eine Erniedrigung der Farbstoffwerte im Vergleich zu denen der „Gewächshaus"-Pflanzen noch nicht meßbar war. Die Pigmentwerte der „Weiß"-Pflanzen wurden deshalb in Tabelle 4 als 100% gesetzt.

Tabelle 4. *Blattfarbstoffgehalt von Avena-Pflanzen nach 2 Tagen Farblichteinwirkung*

	Weiß %	UV-A %	Blau %	Grün %	Gelb %	Rot %
Chlorophyll a .	100	85,4	91,0	63,0	86,1	87,5
Chlorophyll b .	100	84,0	88,2	61,4	81,1	89,3
Carotin	100	78,6	86,1	66,9	84,9	89,0
Xanthophyll. .	100	81,5	89,0	75,3	86,5	93,1
Neoxanthin . .	100	78,7	83,8	69,1	94,0	90,0

bezogen auf Frischgewicht

Im Vergleich zu diesen „Weiß"-Werten sank der Farbstoffgehalt mit der Länge der Zeit weiter ab, wobei die im Grünlicht gewachsenen Haferpflänzchen bei allen Pigment-Komponenten die stärkste Abnahme zu verzeichnen hatten.

Die Abb. 3 und 4 geben nun den Blattpigmentgehalt von Haferpflanzen nach 10tägiger Einwirkung verschiedenen Farblichtes in Prozenten des Gehaltes der „Weiß"-Pflanzen wieder, und zwar als Durchschnitt von 12 Serien, das sind 72 Analysen. Der mittlere Fehler betrug im schlechtesten Falle 3,8%.

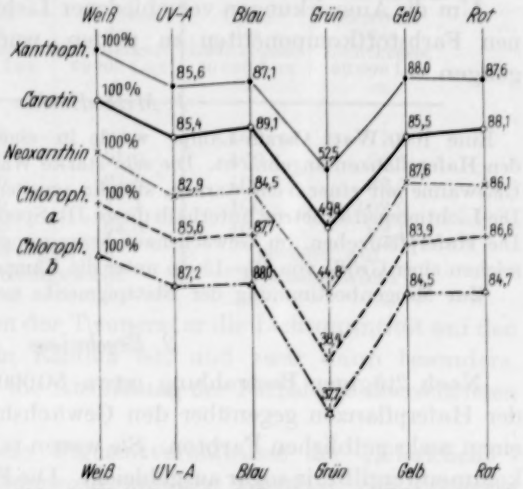


Abb. 4. Blattpigmentgehalt von *Avena*-Pflanzen nach 10tägiger Einwirkung verschiedenen Farblichtes, bezogen auf das Trockengewicht

Auffallend ist wieder die starke Abnahme aller Pigment-Komponenten im Grünlicht, das ja denselben Energiegehalt wie etwa das Blau- und Rotlicht besaß.

Weiterhin läßt sich sofort erkennen, daß eine Mehrausbildung der zum eingestrahlten Farblicht komplementären Farbstoffe, d. h. eine chromatische Adaptation, in keinem Falle eingetreten ist: Die Carotinoide, welche nur Blaulicht absorbieren, haben sich unter dessen Einwirkung im Vergleich zu den grünen Farbstoffen nicht vermehrt, und sie haben im Rotlicht im Verhältnis zu den Chlorophyllen auch keineswegs abgenommen. Auch für die Chlorophylle selbst ist eine Adaptation nicht festzustellen.

Eine Erklärung für die geringe Veränderung der Pigmentverhältnisse bei den „Grün"-Pflanzen und eine Deutung der Befunde wird weiter unten gegeben werden.

Die Ergebnisse sagen aus, daß eine mengenmäßige Verschiebung der grünen und gelben Farbstoff-Komponenten, wie wir sie bei sonnenzu- und -abgewandten Blatt-Teilen von *Veratrum album* gefunden haben, durch eine verschiedene spektrale Zusammensetzung der natürlichen Lichtfelder nicht zu erklären ist. Die Ursache dafür muß also in einem anderen klimatischen Faktor gesucht werden.

IV. Der Einfluß von Starklicht auf den Blattfarbstoffgehalt

Die Färbung einer Pflanze wird kräftiger, wenn sie aus schlechten in gute Lichtverhältnisse kommt. Der Farbstoffgehalt erreicht dann ein

Optimum. Bei noch höherer Lichtintensität erfolgt schließlich eine Ausbleichung. Dabei tritt noch innerhalb der lebenden Zelle eine Metamorphose der Chloroplasten zu Intermediärplastiden, weiter zu Chromoplasten, und in extremen Fällen zu Leukoplasten ein (MUNDING 1952).

Diese Veränderungen sind auch bei Pflanzen zu finden, die auf Grund ihres Standortes als „Sonnen"-Pflanzen anzusprechen wären, wobei Ausbleichungserscheinungen nicht nur im Hochgebirge, sondern auch im Tiefland zu beobachten sind (MONTFORT 1950).

Um die Auswirkungen verschiedener Lichtintensitäten auf die einzelnen Farbstoffkomponenten zu prüfen, wurde folgendermaßen vorgegangen.

1. Methodisches

Eine 1000 Watt Osram-Lampe wurde in einem Aluminium-Reflektor über den Haferpflanzen angebracht. Die sehr starke Wärmestrahlung wurde durch eine Glaswanne mit einer 5 cm starken, ständig erneuerten Wasserschicht abgefangen. Die Lichtintensität betrug unterhalb dieses JR-Sperrfilters noch 50000—80000 Lux. Die Haferpflänzchen, im Gewächshaus herangezogen, wurden erst nach dem Erreichen einer Größe von 10—15 cm unter die Lampen gestellt.

Zur Mengenbestimmung der Blattpigmente siehe Kapitel II, 1.

2. Ergebnisse

Nach 2tägiger Bestrahlung (etwa 50000 Lux) zeigten die Blätter der Haferpflanzen gegenüber den Gewächshaus-Kontrollen (7000 Lux) einen mehr gelblichen Farbton. Sie waren teilweise an den Spitzen vollkommen vergilbt, ja sogar ausgebleicht. Die Farbstoffwerte nach 4tägiger Bestrahlung (durch je 8 Analysen gesichert) sind in Tabelle 5 wiedergegeben.

Tabelle 5. *Blattfarbstoffgehalt von Avena-Pflanzen nach 4tägiger schwacher bzw. starker Belichtung*

	7000 Lux %	50000 Lux %	7000 Lux %	50000 Lux %
Chlorophyll a .	100	73,8	100	48,9
Chlorophyll b .	100	79,3	100	52,4
Carotin	100	80,8	100	53,6
Xanthophyll. .	100	110,2	100	73,1
Neoxanthin . .	100	87,0	100	62,2
	bezogen auf Frischgewicht		bezogen auf Trockengewicht	

Um dem Vorwurf zu begegnen, die Bedingungen bei den Gewächshauskontrollen wären nicht genau dieselben gewesen wie die unter der Lampe, wurden auch Haferpflänzchen miteinander verglichen, die alle in der Starklichtkammer gestanden hatten; nur befand sich — zur Herstellung verschiedener Lichtfelder — ein Teil der Pflanzen in der Mitte des Lichtkegels, ein anderer am Rande, wo die Intensität geringer wird.

Auch hier war gegenüber den schwächer belichteten nach 2 Tagen ein deutlicher Unterschied wahrzunehmen (Tabelle 6).

Das Bedenken, daß es sich bei diesen Verhältnisverschiebungen der Pigmente, trotz der die Wärme abfangenden Wasserschicht, doch noch um eine Temperaturwirkung handeln könnte, ist unbegründet, da nach unseren Erfahrungen die Farbstoffverhältnisse bei höheren Temperaturen im Vergleich zu denen bei niederen (s. Tabelle 2) sich kaum verändern. Bei hohen Temperaturen war sogar eine relative Verringerung der Xanthophyllwerte bemerkbar, also ganz im Gegensatz zu den lichtbedingten Veränderungen.

Tabelle 6. *Vergleich des Blattfarbstoffgehaltes verschieden stark belichteter Avena-Pflanzen nach 2tägiger Exposition*

	Rand des Lichtkegels, 20000 Lux %	Zentrum des Lichtkegels 60000 Lux %	Rand des Lichtkegels, 20000 Lux %	Zentrum des Lichtkegels, 60000 Lux %
Chlorophyll a .	100	89,0	100	77,4
Chlorophyll b .	100	91,0	100	79,0
Carotin	100	94,8	100	82,5
Xanthophyll. .	100	117,1	100	102,0
Neoxanthin . .	100	94,5	100	82,1
	bezogen auf Frischgewicht		bezogen auf Trockengewicht	

Das heißt aber, daß neben der Temperatur die Lichtquantität auf den Pigmentspiegel von großem Einfluß ist, und zwar dann besonders, wenn das Lichtoptimum für die Ausbildung der Farbstoffe überschritten wird.

Vergleichen wir jetzt die Pigmentverhältnisse der „Starklicht"-*Avena*-Pflanzen und der sonnenzugewandten Blatteile von *Veratrum* mit den jeweiligen „Schatten"-Kontrollen, so sind beide Male gleichgerichtete Veränderungen eingetreten: Die Werte von Chlorphyll a, Chlorphyll b und Carotin sind abgesunken, die Xanthophylle wurden vermehrt.

Freilich ist die zur Ausbleichung der Pigmente nötige Lichtintensität bei den einzelnen Pflanzen sehr verschieden und sie kann sogar noch innerhalb einer Art sehr stark schwanken. So ist beim Germer häufig zu beobachten, wie zwei Pflanzen, die dicht nebeneinander wachsen, also auch in den Bodenverhältnissen keinen großen Unterschieden unterliegen dürften, einen stark verschiedenen Grünton aufweisen. Die Blätter der einen Pflanze sind im Extremfalle vollkommen gelb (auch die Schattenteile haben nur noch eine geringe Grünfärbung), während die der anderen Pflanze tief-grün erscheinen und nur an den Sonnenseiten etwas vergilbt sind.

Montfort nennt die Pflanzen, die schon bei geringer Lichteinstrahlung eine Chlorophyll-Depression erleiden, photolabil, im Gegensatz zu den photostabilen Pflanzen, die bei verhältnismäßig hoher Lichtintensität noch einen fast unveränderten Pigmentgehalt aufweisen.

3. Über die Reversibilität der Starklichtveränderungen

Sind nun die eben besprochenen Veränderungen der Chloroplasten-Farbstoffe irreversible Vorgänge, oder werden diese Abweichungen von

der normalen Menge ausgeglichen? MONTFORT, KRESS-RICHTER (1950) haben gefunden, daß nach Trübwetter-Perioden die Ausbleichungen zurückgehen. Aber es ist ungewiß, wie sich die einzelnen Farbstoff-Komponenten, vor allem die gelben Farbstoffe, dabei verhalten.

Die eigenen Untersuchungen zu dieser Frage wurden so durchgeführt:

Haferpflanzen, die 4 Tage unter Starklicht-Einfluß gehalten worden waren, und bei denen deutliche Vergilbungserscheinungen und an den Blattspitzen sogar Ausbleichungen festgestellt werden konnten, wurden danach wieder in das normale Gewächshauslicht gebracht.

Wie die folgenden Zahlen beweisen (Tabelle 7), war die durch die starke Bestrahlung bedingte Abnahme von Chlorophyll a, Chlorophyll b und des Carotins nach 4 Tagen Aufenthalt in gemäßigtem Licht rückgängig gemacht worden. Die Ausbleichungen waren verschwunden, die Blätter erschienen wieder grün.

Tabelle 7. *Blattfarbstoffgehalt von Avena-Pflanzen nach 4tägigem Wechsel von Stark- und Schwachlicht*

	Gewächshaus-kontrolle %	Nach 4 Tagen Starklicht %	4 Tage Starklicht + 4 Tage Gewächshauslicht %
Chlorophyll a . .	100	84,1	105
Chlorophyll b . .	100	85,4	104,2
Carotin	100	85,5	103,1
Xanthophyll . .	100	120,9	111,1
Neoxanthin . .	100	70,7	100,0

bezogen auf Frischgewicht

4. Die Wirkung starken Rotlichtes auf die Chloroplastenfarbstoffe

Bei mäßiger Lichtintensität wird das Komponentenverhältnis der Pigmente, wie wir gesehen haben, von der Farbe des Lichtes nur wenig verändert. Vielleicht aber ist bei starker Einstrahlung die Wellenlänge des Lichtes doch nicht belanglos für die hier beobachteten Veränderungen. Es wäre doch möglich, daß starkes Rotlicht nur die Chlorophylle verminderte und die Carotinoide, die in diesem Licht nicht absorbieren können, mengenmäßig unverändert blieben.

Es wäre überhaupt zu fragen, ob das verhältnismäßig energiearme „rote" Photon noch im Stande ist, Ausbleichungs-Erscheinungen zu bewirken, d. h. ob solche vermutlich photooxydativen Veränderungen durch sämtliche Spektralfarben hervorgerufen werden können. MONTFORT, FELGNER, MÜLLER (1952) haben bei Tiefen-Laminarien, also Wasserpflanzen, auch unter Rotfiltern noch Chlorophyll-Depressionen wahrnehmen können.

Die Versuchsanordnung zur Prüfung der eben aufgeworfenen Fragen war ähnlich wie bei den Starklichtversuchen, nur wurde eine 2000 W-Lampe verwendet, und unterhalb des Wasserbeckens ein Rotfilter (Cellon „Rot", Fa. Menzel, Nachf., München) angebracht, welches die Wellenlängen unter 580 mμ absorbierte.

In Tabelle 8 sind die Farbstoffmengen der 4 Tage unter starkem Rotlicht gehaltenen Haferpflanzen mit denen der Gewächshaus-Kontrollen (jeweils bezogen auf Frischgewicht) verglichen.

Tabelle 8. *Veränderung des Blattfarbstoffgehalts von Avena-Pflanzen in starkem Rotlicht nach 4 Tagen*

	Gewächshaus-kontrolle %	Starkes Rotlicht %
Chlorophyll a . .	100	61,7
Chlorophyll b . .	100	64,6
Carotin	100	63,6
Xanthophyll . .	100	106,0
Neoxanthin . . .	100	79,5

bezogen auf Frischgewicht

Betrachten wir uns daraufhin noch einmal Tabelle 5, so fällt sofort die große Übereinstimmung der Pigmentveränderung bei starkem Weißlicht und bei starkem Rotlicht auf. Beide Male sind die Chlorophylle a und b, das Carotin und Neoxanthin mengenmäßig erniedrigt, das Xanthophyll aber ist erhöht.

5. Die photooxydativen Veränderungen der gelben Farbstoffe

Durch die Trennung der Chloroplasten-Farbstoffe mit Hilfe der Papierchromatographie (Hager 1957) konnte festgestellt werden, daß in stark belichteten Pflanzen eine Reihe von gelben Farbstoffen zusätzlich in Erscheinung treten. Die mengenmäßigen Veränderungen der Pflanzenfarbstoffe bei Starklichteinwirkung gehen demnach auch mit qualitativen Veränderungen einher.

Die Untersuchungen wurden an *Avena sativa*, *Veratrum album* und *V. nigrum*, *Buddleia davidii*, *Hedera helix*, *Parthenocissus quinquefolia* und *Corylus avellana* durchgeführt. Die Pflanzen waren unter direktem Sonnenlicht oder Kunstlicht bei einer Intensität von 50000 Lux oder mehr gewachsen. Dabei wurden unabhängig von der Pflanzenart und unabhängig von den genannten Lichtquellen jeweils dieselben Veränderungen bei den Carotinoiden wahrgenommen, Veränderungen, die um so deutlicher zu bemerken waren, je länger die Starklicht-Einwirkung andauerte.

Neben den bei Schwachlicht in größeren Mengen immer vorkommenden gelben Farbstoffen, dem β-Carotin, den 3 Haupt-Xanthophyllen Lutein, Violaxanthin und Neoxanthin, sowie der in geringen Mengen vorkommenden Substanz c_{fl}, treten bei Starklicht folgende, vorher oft nur in Spuren vorkommende Pigmente besonders in Erscheinung: Zeaxanthin, Xanthophyllepoxyd, X_0, Chrysanthemaxanthin und Flavoxanthin, wahrscheinlich auch X_1, X_2 und X_3 und bei den Carotinen der

Farbstoff c_{14}. Letzterer enthält zu einem großen Teil β-Carotin-diepoxyd, aber auch noch weitere 13 Carotin-Isomere (s. HAGER 1957, S. 604f.).

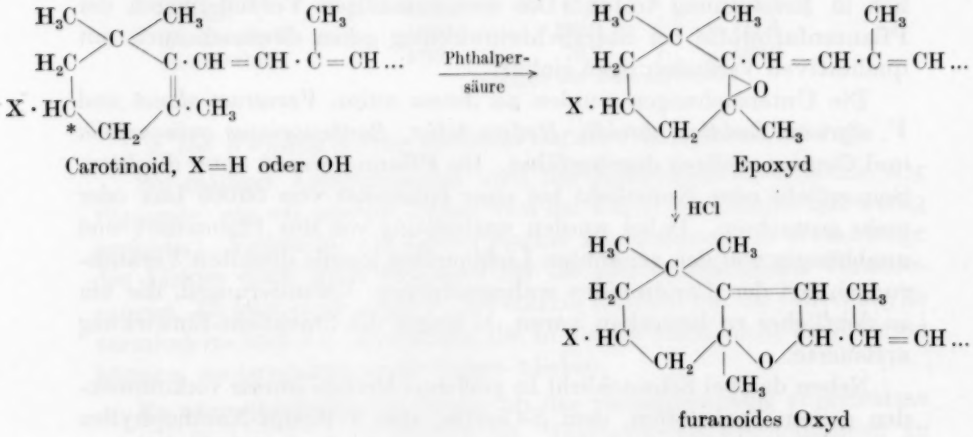
Demnach wäre die Erhöhung der Xanthophyllwerte, die wir bei Starklichteinwirkung gemessen haben, teilweise durch das Neuauftreten oder zumindest das verstärkte Auftreten der genannten Xanthophylle zu erklären. Vermutlich werden diese Pigmente durch direkte Umwandlung von Carotin, das ja stark abnimmt, gebildet.

Eine ebensolche Annahme wäre für die unter c_{14} zusammengefaßten Carotin-Derivate zu machen.

In diesem Zusammenhang sei eine Arbeit von MOSTER u. QUACKENBUSH (1952) an Mais-Pflanzen angeführt, in der ebenfalls eine mengenmäßige Verschiebung von Carotin-Komponenten bei hoher Lichtintensität auf eine gegenseitige Umwandlung zurückgeführt wird.

Als bevorzugtes C-Atom für eine Oxydation hat sich sowohl im β- als auch α-Jononring der Carotine das Kohlenstoffatom 3 ($=\overset{*}{C}$) herausgestellt, das dann den Sauerstoff in Form einer Hydroxyl-Gruppe trägt. Sie ist die charakteristische Gruppe der Xanthophylle. Ferner ist noch die Doppelbindung oxydierbar, die in konjugierter Form im β-Jononring vorliegt, nicht dagegen die isolierte Doppelbindung des α-Jononringes.

Im Experiment läßt sich eine Oxydation folgendermaßen durchführen (nach KARRER 1948):



Carotinoid, X=H oder OH

Epoxyd

furanoides Oxyd

Es entsteht zunächst ein Epoxyd und dann das furanoide Oxyd. KARRER (1948, S. 44) vermutet, daß eine solche Umwandlung auch in der Pflanze stattfindet durch Oxydation der entsprechenden Carotinoide und Umwandlung durch die Säuren der Pflanzenzelle in die furanoiden Oxyde.

Entsprechend der Anzahl der β-Jononringe im Carotinoidmolekül (eine Oxydation des α-Jononringes ist, wie gesagt, in dieser Form nicht bekannt geworden) können sich also Mono- und Di-Epoxyde bilden. Außerdem läßt sich — zunächst rein chemisch — sagen, von welchen Carotinen die Oxydationsprodukte abzuleiten wären:

β-Carotin (Vitamin A-wirksam)	α-Carotin (vermindert Vitamin A-wirksam)
↓	↓
β-Carotin-di-Epoxyd (Vitamin A-wirksam)	Xanthophyll (Lutein) = Dioxy-α-Carotin (verm. Vitamin A-wirksam)
↓	↓
Zeaxanthin = Dioxy-β-Carotin (Vitamin A-unwirksam)	Xanthophyllepoxyd (Vitamin A-unwirksam)
↓	↓
Violaxanthin = Zeaxanthin-di-Epoxyd (Vitamin A-unwirksam)	Flavoxanthin, Chrysanthemaxanthin = furanoides Xanthophyllepoxyd (Vitamin A-unwirksam)

Bei der Betrachtung der Summenformeln wird noch einmal deutlich, daß eine Umwandlung der Carotine in Xanthophylle in jedem Falle eine Oxydation ist: β-Carotin $C_{40}H_{56}$, β-Carotin-di-Epoxyd $C_{40}H_{56}O_2$, Zeaxanthin $C_{40}H_{56}O_2$, Violaxanthin $C_{40}H_{56}O_4$; α-Carotin $C_{40}H_{56}$, Lutein $C_{40}H_{56}O_2$, Xanthophyllepoxyd $C_{40}H_{56}O_3$, Flavoxanthin und Chrysanthemaxanthin $C_{40}H_{56}O_3$.

Nun treten aber im Chromatogramm noch eine ganze Reihe gelber Farbstoffe auf (Hager 1957, S. 605), die sich zwischen Xanthophyll und Carotin befinden. Es kann sich dabei nicht nur um Oxydationsprodukte im engeren Sinne handeln, denn die Punkte einer Sauerstoffanlagerung am Molekül sind begrenzt und durch die angeführten Verbindungen schon nahezu ausgeschöpft.

Es gibt aber eine weitere Möglichkeit, die das Auftreten dieser Zonen erklären kann. Ähnlich wie bei den Äthylen-Verbindungen ist bei den Carotinoiden eine cis-trans-Isomerie festgestellt worden.

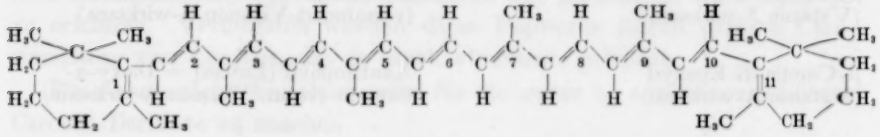
Auf Grund von Spektralanalysen (Mulliken 1942) nimmt man normalerweise eine trans-Konfiguration an, jene Form also, die den kleinsten Energiegehalt und die größte Stabilität aufweist. Durch Bestrahlung mit Licht und anderen Behandlungsmethoden können solche Carotinoide aber in cis-Formen übergeführt werden.

Diese sind in ihrer Haftfähigkeit bei der chromatographischen Trennung von den trans-Formen deutlich verschieden (Zechmeister 1944) und haben ein nach kürzeren Wellenlängen verschobenes Absorptions-Maximum.

Nach Zechmeister (1944) sind nicht alle Doppelbindungen eines Carotin-Moleküls an der cis-trans-Umlagerung beteiligt, sondern nur

die Lückenbindungen von der Art $-\underset{\displaystyle CH_3}{\underset{|}{C}}=CH-$ und die Doppelbindung in der Mitte des Moleküls.

Für die cis-trans-Isomerie kommen somit nur die Doppelbindungen 3, 5, 6, 7 und 9 in Betracht:



Es brauchen aber nicht alle trans-Bindungen gleichzeitig in cis-Bindungen umgelagert sein. Vielmehr sind Moleküle mit einer oder zwei cis-Bindungen bekannt. Ein Carotinoid kann also in mehreren Isomeren auftreten, falls die Bedingungen zu einer Umwandlung gegeben waren.

Wahrscheinlich bewirkt die Starklichteinstrahlung auf das grüne Blatt eine geringe Isomerisation der darin befindlichen gelben Pigmente und eine teilweise Umlagerung der trans-Bindungen in energiereichere cis-Bindungen. Da solche teilweise oder vollkommen umgelagerte Carotinoide eine von der Stammsubstanz etwas verschiedene Laufgeschwindigkeit im Chromatogramm haben, sind sie dort als eine größere Anzahl nahe beieinanderliegender gelber Zonen zu erkennen (HAGER 1957, S. 605).

Es muß freilich darauf hingewiesen werden, daß sowohl Oxydationsprodukte als auch Isomere der Carotine sich in vitro bilden können, sofern Sauerstoff und Licht Zutritt haben. In unserem Falle ist aber der Beweis, daß sich die genannten Carotin-Derivate und -Isomere bereits in der Pflanze gebildet haben, insofern erbracht, als sie nur in Chromatogrammen von stark bestrahlten Pflanzen nachzuweisen waren. So konnten bei jungen Haferpflanzen nach 4tägiger Bestrahlung mit hoher Lichtintensität schon nahezu alle die oben aufgeführten „Starklicht-Pigmente" gefunden werden. Bei den Gewächshaus-Kontrollen waren dagegen keine Carotin-Isomere zu beobachten und von den „Starklicht-Oxyden" nur Andeutungen.

6. Vitamin A-Wirksamkeit photooxydativ veränderter Pflanzen

Als Vorstufe für das Vitamin A sind nur diejenigen Carotine geeignet, die in ihren Molekülen unsubstituierte β-Jononringe und ungesättigte Seitenketten enthalten. Für die Wirksamkeit spielen ferner die sterischen Verhältnisse eine Rolle: Die biologische Aktivität bei den Provitaminen A sinkt dann, wenn cis-Bindungen auftreten (ZECHMEISTER 1945).

Durch die Umwandlung des β-Carotins und, soweit vorhanden, des (nur halb wirksamen) α-Carotins bei Starklichteinwirkung in Xanthophylle, sowie durch die Bildung von cis-Isomeren, ist aber eine entschei-

dende Veränderung im Molekül gegeben. Die Vitamin A-Wirksamkeit geht dadurch verloren.

Lang anhaltendes Schönwetter, also starke Insolation, bedingt demnach eine vorübergehende Abnahme der Vitamin A-Vorstufen. Es kann in dieser Beziehung zu einer Wertminderung von Gemüse und Futterpflanzen führen und auch zu einer Abnahme des Vitamin A-Gehaltes in der Milch und der daraus gewonnenen Butter.

V. Besprechung der Ergebnisse

1. Die Temperaturversuche

Ist die Tagestemperatur gleichbleibend, und wird die *Nachttemperatur* über einen Zeitraum von mehreren Tagen verändert, so nimmt der Pigmentgehalt der Versuchspflanzen, wenn wir ihn auf das Frischgewicht beziehen, mit abnehmender Temperatur zu, bezogen auf das Trockengewicht bleibt er aber fast unverändert (s. Tabelle 3).

Das läßt sich so erklären: Bei Nacht erfolgt — wenn man die Gesamtmenge an organischer Substanz im Auge hat — keine Stoffvermehrung durch CO_2-Assimilation. Die Vergrößerung der Blätter bei den 25°-Pflanzen gegenüber denen der 5°-Pflanzen ist deshalb lediglich auf das endergone Streckungswachstum zurückzuführen, bei dem unter (aktiver?) Wasseraufnahme in die Zellen (Bonner u. Mitarb. 1953) und Ausbildung von Vacuolen eine Volumenzunahme erreicht wird, ohne Vermehrung der Plasmamasse. Die Menge der Chloroplastenfarbstoffe je Frischgewichtseinwaage (3 g) scheint dadurch bei den Pflanzen höherer Nachttemperatur niedriger zu sein; in Wirklichkeit wurde bei ihnen sozusagen mehr Wasser mit eingewogen.

Das heißt aber, daß der Farbstoffgehalt als Teil der sich bei Nacht nicht vermehrenden lebenden Substanzen pro Trockengewichtseinheit bei den verschiedenen Nachttemperaturen unverändert bleibt.

Äußerlich erkennt man allerdings die Pflanzen, welche bei tiefen Nachttemperaturen gewachsen waren, an der dunkleren und kräftigeren Färbung. Anatomische Untersuchungen (Bandurski, Scott u. a. 1953) haben ergeben, daß die Blätter viel kleinere Intercellularen und damit viel kleinere Luftbezirke haben, welche das Licht reflektieren können, als diejenigen, die bei höherer Nachttemperatur gewachsen waren.

Anders verhält es sich jedoch mit der Menge der Blattfarbstoffe bei verschiedenen Tagestemperaturen. Hier finden wir, sowohl in bezug auf das Frischgewicht als auch auf das Trockengewicht, bei tiefen Temperaturen im Vergleich zu hohen, eine starke Abnahme von Chlorophyll a, Chlorophyll b, Carotin und Neoxanthin und keine oder eine schwächere Abnahme der Xanthophylle.

Sironval (1953), der Monatserdbeeren untersucht hat, fand bei Wachstum unter gleichbleibender Tages- und Nachttemperatur von 20°

einen niedrigeren Farbstoffgehalt, als wenn die Pflanzen bei tiefen Nachttemperaturen und hoher Tagestemperatur gewachsen wären. Er hat gleiche Blattflächen miteinander verglichen, welche jedoch mit unseren frischgewichtsbezogenen Werten nach den obigen Überlegungen (Vacuolenbildung und Blatt-Vergrößerung) zu vergleichen sind und mit ihnen auch übereinstimmen.

Seine Deutung aber, die Pflanze bedürfte eines Anreizes für die Farbstoffbildung durch starke Temperaturunterschiede zwischen Tag und Nacht, erweist sich als nicht richtig. Der Farbstoffgehalt erscheint pro Frischgewicht und pro Fläche bei großen Temperaturschwankungen deshalb höher, weil dabei die Summierung zweier Effekte eintritt: die *scheinbare* Vermehrung der Farbstoffe bei tiefen Nachttemperaturen (durch geringeren Wassergehalt der kleiner bleibenden Blätter), und ihre *tatsächliche* Vermehrung bei höheren Temperaturen durch verstärkte Neubildung.

Wir müssen nun noch näher untersuchen, wie es zu einer Abnahme der Farbstoffe bei tiefen Tagestemperaturen kommt. Sie könnte einmal, wenn wir den Farbstoffgehalt als normalerweise unveränderlich halten, durch eine Zerstörung von Farbstoffmolekülen, oder wenn wir einen ständigen Auf- und Abbau der Pigmente mit einer gewissen Gleichgewichtseinstellung annehmen, durch einen verstärkten Abbau oder eine verminderte Neubildung erklärt werden.

Die erste Annahme ist sehr unwahrscheinlich geworden, da einige Arbeiten zeigen (ROUX u. HUSSON 1952, SMITH 1948, BANDURSKI 1949), daß die Chloroplastenfarbstoffe am dynamischen Zellgeschehen, d. h. an den dauernden Stoffumwandlungen teilhaben. Bei einem ständig vor sich gehenden Auf- und Abbau der Farbstoffe aber, muß sich ein Gleichgewicht einstellen, was wir dann als den „normalen" Blattfarbstoff-Gehalt ansehen.

In unserem Falle, bei tiefen Tagestemperaturen, ist dieses Gleichgewicht gestört durch einen verstärkten Abbau oder einen verminderten Aufbau der Pigmente.

Aber auch in dieser Alternative können wir nach den oben angeführten Ergebnissen eine Entscheidung treffen. Wenn nämlich bei Nacht, im Gegensatz zum Tag, die Temperatur keine Auswirkungen auf den (trockengewichtsbezogenen) Farbstoff-Gehalt hat, so muß eine lichtabhängige Reaktion, welche von der Temperatur beeinflußbar ist, an der Veränderung des Pigmentspiegels beteiligt sein.

Da wir bei den gegebenen Intensitäten eine lichtabhängige, pigmentabbauende Reaktion nicht kennen, kann es nur eine aufbauende Reaktion sein, welche den Blattfarbstoff-Gehalt verändert.

Eine nur am Tage bei tiefen Temperaturen gehemmte, aufbauende Reaktion kann nun einmal mit der Photosynthese in Zusammenhang

stehen, oder aber mit einer anderen lichtabhängigen Reaktion. Eine solche wäre die Umwandlung von Protochlorophyll in Chlorophyll. Diese Hydrierung ist, wie ja die Ausbildung von Chlorophyll in Coniferenkeimlingen bei vollkommener Dunkelheit beweist, kein photochemisches Geschehen im engsten Sinne, sondern ein enzymatischer Vorgang, der durch die Lichtquanten nur ausgelöst wird (GRANICK 1951). Trotzdem ist diese Reaktion bei 0° C noch nicht merklich gehemmt (SMITH 1948) und kommt deshalb für unsere Fragestellung nicht in Betracht.

BOGORAD u. GRANICK (1953) haben nun an einer Chlorella-Mutante beobachtet, daß bei der Veresterung des Mg-Vinylphäoporphyrins a_5 die Temperatur eine Rolle zu spielen scheint. Diese Verbindung wird mit dem Alkohol Phytol zu Protochlorophyll verestert. Bei tiefen Temperaturen soll dieser Reaktionsschritt aber nicht ablaufen, und das Mg-Vinylphäoporphyrin a_5, das sich auch im Dunkeln bilden kann, aber im Licht instabil ist, soll dann bei Beleuchtung zerstört werden, ohne daß Chlorophyllbildung eintritt.

Daß hier aber nur ein Teil der temperaturabhängigen Reaktionsschritte erfaßt worden sein kann, beweist die Tatsache, daß auch das Carotin, bei dem doch überhaupt keine Veresterung während der Biosynthese erfolgt, bei tiefen Temperaturen in unseren Versuchen ebenfalls abnimmt.

BANDURSKI (1949) vermutete als Ursache für die Abnahme der Carotine einen Mangel an Vorstufen. SMITH (1948) nahm an, daß bei 4° C die enzymatische Synthese der Chlorophyllvorstufen blockiert wird, und daß bei dieser Temperatur eine Beleuchtung nur mehr die Umwandlung der schon vorhandenen geringen Mengen von Protochlorophyll in Chlorophyll verursachen kann.

Eine Abnahme der Chlorophylle und der Carotine ließe sich aber auch erklären, wenn man eine Temperaturhemmung bereits bei Verbindungen annimmt, aus denen die grünen und gelben Pigmente noch hervorgehen können, d. h. eine Hemmung bei der Synthese von Vorläufer-Assimilationsprodukten. Denn daß Verbindungen, die aus der primären Fixation des CO_2 stammen, zum Aufbau der Chloroplastenfarbstoffe verwendet werden, haben ROUX u. HUSSON (1952) mit radioaktivem CO_2 an *Physalis*-Blättern zeigen können, welche 30 sec in einer $C^{14}O_2$-Atmosphäre (0,03 Vol.-%) belichtet und anschließend verschieden lang (15 sec bis 20 min) dem gleichen Licht in normaler atmosphärischer Luft ausgesetzt worden waren. Nach 20 min wiesen die Chloroplastenfarbstoffe Radioaktivität auf: Es waren am isolierten Chlorophyll a 0,6%, am Chlorophyll b 0,1% und in den Carotinoiden 5% der von den Blättern adsorbierten Radioaktivität nachzuweisen. (Die gemessene Radioaktivität der Chlorophyllmoleküle kann nicht durch

das bei Beginn der Photosynthese labil angelagerte CO_2-Molekül — WARBURG u. KRIPPAHL 1956 — bedingt sein, da ein solches bei der Extraktion der Farbstoffe mit organischen Lösungsmitteln abgespalten wird.)

Da bei den meisten einheimischen Pflanzen die untere Temperaturgrenze für das Einsetzen der CO_2-Assimilation bei etwa 0° liegt (ein augenfälliger Beweis dafür ist der von FRANCK, FRENCH u. PUCK 1941 gefundene Fluorescenz-„Ausbruch" bei *Hydrangea*-Blättern, der beim plötzlichen Abkühlen der Blätter von 23 auf 0° einsetzt), ist die Möglichkeit einer verringerten Farbstoffausbildung bei tiefen Tagestemperaturen auf Grund einer verringerten Assimilationsleistung immerhin gegeben.

Bis jetzt haben wir von der Abnahme der Farbstoffe bei tiefen Tagestemperaturen nur allgemein gesprochen, obwohl sie, je weiter wir uns 0° C nähern, bei den einzelnen Komponenten ein verschiedenes Maß erreicht. Die dabei auftretende relative Erhöhung des Xanthophyllgehalts weist darauf hin, daß sich bei tiefen Tagestemperaturen ein zweiter Einfluß geltend macht, den wir aber erst bei den Starklichtversuchen besprechen wollen.

2. Die Farblichtversuche

Wie die Abb. 3 und 4 zeigen, ist eine chromatische Adaptation im herkömmlichen Sinne nicht eingetreten. Eine Mehrausbildung z. B. von Carotinoiden in Blaulicht wäre auch nur dann verständlich, wenn ihre Synthese oder zumindest ein Syntheseschritt lediglich mit Hilfe der größeren Energie der Blaustrahlung vor sich gehen könnte. Dann dürften aber in Grün oder Rot keine Carotinoide neu gebildet werden.

Gegen die Möglichkeit einer chromatischen Adaptation spricht ferner das Einsteinsche Gesetz der photochemischen Äquivalenz, nach dem gleiche Mengen absorbierter Lichtquanten verschiedener Wellenlänge, sofern sie überhaupt einen ausreichenden Energiewert zur Auslösung der Reaktion haben, den gleichen photochemischen Effekt erzielen. Die Fluorescenzstrahlung der Farbstoffe in vivo ermöglicht eine Nachprüfung, da sich von ihr die Höhe der photochemisch umgesetzten Energie ableiten läßt. Bei *Chlorella* z. B. tritt unabhängig von der Wellenlänge der Erregerstrahlung nur das rote Fluorescenzband auf (VERMEULEN, WASSINK u. REMAN 1937), welches dem Elektronenanregungszustand Y entspricht, also dem tiefsten Energieniveau (RABINOWITCH, S. 631), verglichen mit den noch möglichen Energiestadien B (Blau-Violett-Fluorescenz) und A (Gelb-Fluorescenz). Solange es sich aber um ein einziges Bandsystem handelt, ist, nach den allgemeinen Erfahrungen der Photochemie, die Wellenlänge für den Effekt nicht wichtig. Der Grund ist der, daß die Erregungsenergie der Elektronen konstant ist, und alle überschüssige Energie, welche durch die Moleküle absorbiert wird — etwa bei energiereicheren (hier „blauen") Lichtquanten — nur dazu dient, die Schwingungs- und Rotationsenergie der Elektronen zu vergrößern.

Das heißt aber, daß qualitativ verschiedene Lichtquanten, wenn sie vom Farbstoffapparat absorbiert werden, chemisch gleichartige Wirkungen hervorbringen, daß also im Rotlicht nicht andere Syntheseschritte ablaufen können als im Blaulicht.

Da die Absorption der photosynthetisch wirksamen Lichtquanten, also der „roten" bis „langwellig-ultravioletten" (HOOVER 1937, BURNS 1942; Photosynthese bei *Triticum* noch bei 365 mμ), welche durch die Chlorophylle und teilweise die Carotinoide (s. unten) erfolgt, über den gesamten Spektralbereich nicht gleichmäßig verteilt ist, muß die Leistungskurve der Photosynthese, wenn wir energiegleiches farbiges Licht auf die Blätter einwirken lassen, parallel zur Absorptionskurve verlaufen.

Nur müssen wir dabei bedenken, daß ein solches Aktionsspektrum der Photosynthese erst dann deutlich in Erscheinung treten kann, wenn die eingestrahlte Lichtmenge so gering ist, daß sie die Geschwindigkeit der gesamten Photosynthese begrenzt. Ein Vergleich von Absorptionskurven lebender Blätter (SEYBOLD u. WEISSWEILER 1942) mit Aktionsspektren (HOOVER 1937, BURNS 1937 und 1938, EMERSON u. LEWIS 1943) lassen tatsächlich gute Übereinstimmung erkennen, mit geringen Abweichungen im blauen Bereich (nur etwa die Hälfte des von den Carotinoiden — wahrscheinlich nur von bestimmten Komponenten — absorbierten Lichtes ist photosynthetisch wirksam; die absorbierten Quanten werden direkt auf das Chlorophyll übertragen und verursachen den gleichen Elektronenzustand Y, der auch durch direkt aufgenommenes Licht erzeugt wird; EMERSON u. LEWIS 1943, RABINOWITCH 1951, S. 1148—1152).

Für die Betrachtung unserer Ergebnisse sind die eben angeführten Tatsachen deshalb von besonderer Wichtigkeit, weil dann, wenn der Farbstoffgehalt von der Photosyntheseleistung, d. h. vom „Ernährungszustand" und Energieniveau der Zelle, abhängt, er in den einzelnen Spektralbereichen dem Verlauf des Aktionsspektrums und damit der Höhe der Lichtabsorption entsprechen muß (sofern die dabei eingestrahlte Intensität den Vorgang noch tatsächlich limitiert).

In den Abb. 3 und 4 ist ein solches Verhalten der Pigmente auch wirklich zu erkennen. Das Absinken der Farbstoffe im Rot und Blau gegenüber Weiß bestätigt dabei die begrenzende Wirkung des Lichtes.

Wenn wir einen ständigen Auf- und Abbau der Blattfarbstoffe annehmen, müssen wir eine weitere Ursache für die Abnahme der Pigmente in den bestimmten Spektralbezirken in Erwägung ziehen: Nicht eine verringerte Photosyntheseleistung bezw. schlecht ernährte Zelle könnte der Grund für eine mangelhafte Pigmentausbildung sein, sondern eine nicht vollständig stattfindende Umwandlung von Protochlorophyll in Chlorophyll mit einer daraus resultierenden verlangsamten Photosynthese. KOSKI, FRENCH u. SMITH (1951) geben an, daß nur die vom

Protochlorophyll absorbierte Strahlung mit den Maxima bei 650 und 445 mμ für dessen Umwandlung in Chlorophyll maßgebend ist. Im grünen Spektralbereich, in dem die Absorption des Protochlorophylls am geringsten ist, würde demnach auch weniger Chlorophyll gebildet werden.

Da aber eine solche Umwandlung bereits bei sehr minimalen Lichtintensitäten erfolgt, bei denen die viel mehr Energie benötigende Photosynthese noch sehr schwach ist, dürfte in dem Cyclus Protochlorophyll → Chlorophyll → Photosynthese → Assimilate → Protochlorophyll wohl wieder das Ausmaß der Photosynthese und nicht die lichtbedingte Umwandlungsreaktion Protochlorophyll → Chlorophyll die Geschwindigkeit bestimmen. Auch das Ansteigen des Quotienten Carotinoide/Chlorophylle im grünen Spektralbereich ist noch kein Beweis für eine hier langsamer verlaufende Umwandlung von Protochlorophyll in Chlorophyll; denn die Synthesegeschwindigkeit der Carotinoide ist im allgemeinen sowieso höher (s. unten) als diejenige der Chlorophylle, was sich bei mangelhaft aufgefüllten Farbstoffdepots in einem relativ höheren Mengenspiegel dieser gelben Farbstoffe bemerkbar machen könnte.

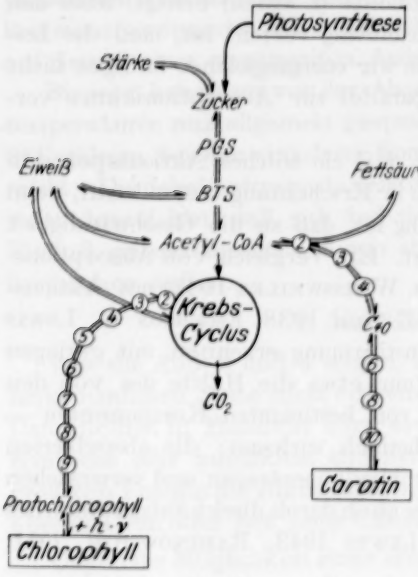


Abb. 5

Aber selbst dann, wenn wir den verringerten Chlorophyllgehalt ganz oder teilweise auf eine Hemmung der Umwandlung Protochlorophyll → Chlorophyll zurückführen, müssen wir einen ständigen Auf- und Abbau der Farbstoffe annehmen, da es sich in unserem Falle nicht um etiolierte Keimpflanzen handelt, in denen erst Chlorophyll aus den Vorstufen gebildet werden muß, sondern um Pflanzen mit einem normalen Pigmentgehalt, der ohne einen solchen Abbau konstant bleiben müßte.

Das, was hier über die Farbstoffveränderungen beim Einwirken schwachen farbigen Lichtes und oben über die Abnahme der Farbstoffe bei tiefen Tagestemperaturen im Zusammenhang mit der Photosyntheseleistung ausgesagt wurde, läßt sich in einem Schema (Abb. 5) verdeutlichen, in dem Untersuchungen über die Biosynthese der Chlorophylle (DELLA ROSA, ALTMANN, SALOMON 1953) und der Carotinoide (GOODWIN 1955, ENY 1953, PORTER u. LINCOLN 1950) berücksichtigt wurden.

Darin bedeutet für die Carotinsynthese:

(1) Acetyl-CoA, (2) Acetacetyl-CoA, (3) β-hydroxy-β-methylglutaryl-CoA, (4) β-hydroxy-isovaleryl-CoA $\xrightarrow{\text{Polymerisat.}}$ C_{40}→(6) Tetrahydrophytoen, (7) Phytoen, (8) Phytofluen, (9) ζ-Carotin, (10) Tetrahydrolycopin, (11) Lycopin, (12) γ-Carotin, (13) β-Carotin, (14) α-Carotin;

für die Chlorophyllsynthese:

(1) Citronensäure-Cyclus, (2) Succinyl-CoA, (3) Aminolävulinsäure, (4) Porphobilinogen, (5) Porphyrin, (6) Uroporphyrin, (7) Hämatoporphyrin, (8) Protoporphyrin, (9) Mg-Protoporphyrin, (10) Mg-Vinylphäoporphyrin-a_5-phytylester = Protochlorophyll $\xrightarrow{\text{Reduktion}}$ Chlorophyll a.

Dieses Schema soll noch einmal klar machen, daß die Menge der Farbstoffe und auch der anderen Zellbestandteile abhängig ist von der Geschwindigkeit der aufbauenden „Hin"-Reaktionen und der abbauenden „Rück"-Reaktionen. Zwischen ihnen kommt es nun, je nach den äußeren Bedingungen, zu einem dynamischen Gleichgewicht. Läuft die Photosynthese optimal ab (genügend Licht, ausreichende CO_2-Versorgung, höhere Temperatur), dann werden die Assimilate, wie Kohlenhydrate, Fette, Eiweiße und auch die Farbstoffe, einen hohen Mengenspiegel aufweisen. Bei beeinträchtigter Synthese wird dagegen mehr abgebaut, und letztlich werden auch die Synthese-„Endprodukte" vermindert.

Aus diesem Gesichtswinkel heraus lassen sich die Farbstoffausbleichungen leicht erklären, die bei mangelnder Lichteinstrahlung an grünen Pflanzen zu beobachten sind (Zahn 1952, Nagel 1940), ferner die verlangsamte Chlorophyllbildung in etiolierten Maisblättern bei Abwesenheit von CO_2 (Roux 1951).

3. Die Starklichtversuche

Über den Chemismus der Blattfarbstoffveränderungen bei Starklichteinwirkung erhalten wir einen Hinweis durch das zusätzliche oder verstärkte Auftreten von Carotinoiden, welche als Oxydationsprodukte anzusprechen sind. Einer Abnahme von Carotin steht eine Zunahme von Xanthophyllen gegenüber. Auch das Ausbleichen der Chlorophylle kann durch Bildung farbloser Oxydationsprodukte erklärt werden (s. unten).

Diese Veränderungen müssen, da sie oxydativer Art sind, andere Ursachen haben, als die eben bei den Temperatur- und Farblichtversuchen besprochenen; sie müssen aber, da sie auch in starkem Rotlicht vor sich gehen, wo die sich verändernden Carotine gar kein Licht absorbieren können, als Folge einer Stoffwechselwirkung aufgefaßt werden.

Zu einer Klärung können schon einige frühere Arbeiten beitragen. Föckler (1939) beobachtete, daß die CO_2-Aufnahme des Farns *Trichomanes radicans*, welcher 1 Stunde direktem Sonnenlicht (= Starklicht) ausgesetzt war, durch eine Sauerstoffaufnahme ersetzt wurde. Je länger

die Exposition dauerte, desto langsamer und weniger vollständig war die Wiederherstellung einer normalen O_2-Abgabe in gemäßigtem oder schwachem Licht. STÅLFELT (1939) fand in Flechten eine 26%ige Abnahme der Photosyntheserate nach Belichtung mit 16000 Lux. Zur Erholung waren 14 Stunden in Dunkelheit notwendig. STEEMANN-NIELSEN (1949) stellte nach einem Übergang von Starklicht zu Schwachlicht (bei *Fucus serratus* und *Cladophora insignis*) eine zeitweilige Hemmung der Photosynthese fest ($^1/_2$—1 Std.), die durch die Inaktivierung einer großen Zahl von Chlorophyll-Molekülen erklärt wird. Diese hat aber nur dann einen Einfluß auf den Photosynthesewert, wenn das Licht schwach und damit zum begrenzenden Faktor wird.

Eine ebensolche Photosynthese-Hemmung läßt sich aber auch durch einen Überschuß an Sauerstoff herbeiführen (WARBURG 1920, MCALISTER u. MYERS 1940).

Besonders deutlich werden die Beziehungen zwischen Sauerstoffaufnahme und Starklichthemmung der Photosynthese bei den ausgedehnten Untersuchungen von MYERS u. BURR (1940) an *Chlorella*. Bei 4000 f.c. (foot-candles, = 43000 Lux) wurde die Photosyntheserate nach 20 min konstant. Bei 12900 f.c. wich nach 20 min die Sauerstoffabgabe einem Verbrauch. Bei 27700 f.c. war die gesamte Sauerstoffabsorption 2,5mal größer als diejenige, die durch die Atmung allein verursacht wird. Der Druckabfall setzte dabei fast augenblicklich nach dem Beginn der Beleuchtung ein. Jedoch nach 2 Stunden (bei 38000 f.c.) begann die Sauerstoffaufnahme abzunehmen. Es waren dabei — was für unsere Versuche von besonderer Wichtigkeit ist — erste Anzeichen einer Verfärbung der Zellen, einer Ausbleichung zu beobachten.

Zweifellos ist dies wiederum ein Hinweis dafür, daß die gefundenen Farbstoffveränderungen mit der Photosynthesehemmung bei Starklicht oder Sauerstoffüberschuß in Zusammenhang stehen und demnach photooxydativer Natur sein müssen.

Diese oxydative Photosynthesehemmung haben nun FRANCK u. a. (1941, 1947, 1949) als „Selbstnarkotisierung" der Farbstoffe und eine Inaktivierung des katalytischen Mechanismus gedeutet. Die Anhäufung primärer Oxydationsprodukte („Photoperoxyde") führt zu einer Oxydation gewisser Zwischenprodukte, die eine Art „Narkotikum" bilden, das sich an den Chlorophyll-Komplex anlagert und ihn zunächst inaktiviert.

Ein solcher Fall tritt ein, wenn die Reaktion a (die Zusammenfassung des ersten photochemischen Prozesses; s. unten) zu schnell vor sich geht im Vergleich zu den folgenden Umsetzungen b und c. Diese sollen darin bestehen, daß das Reduktionsprodukt {OH} sich einer enzymatischen Umwandlung zu unterziehen hat, welche eine Engpaßreaktion einschließt, und eine Begrenzung der Gesamtgeschwindigkeit der Photosynthese bewirkt ($k^*I \gg k_c$ und k'_e). Angehäuftes {OH} reagiert dann mit einem Zwischenprodukt H_2M, welches man im Überschuß in

der Zelle annimmt (Zucker ?), und führt es über in ein „halboxydiertes" Produkt (eine pflanzliche Säure ?), welches, vom Chlorophyll absorbiert (Reakt. *d*), dessen photosynthetische Aktivität verhindert und seine Fluorescenz vergrößert. Diese „Narkotisierung" wird durch die Reaktion *e* unter *Sauerstoffverbrauch* wieder aufgehoben, welche auch die Oxydation des halboxydierten „Narkotikums" vervollständigt.

$$X \cdot Chl \cdot HZ \xrightarrow{+k^{*}I} XH \cdot Chl \cdot Z$$

$$XH \cdot Chl \cdot Z\,(+\,\{CO_2\}) \xrightarrow{(k=\infty)} \{HCO_2\} + X \cdot Chl \cdot Z$$

$$X \cdot Chl \cdot Z\,(+\,\{H_2O\}) \xrightarrow{(k=\infty)} X \cdot Chl \cdot HZ + \{OH\}$$

---

a) $\overline{X} \cdot Chl \cdot HZ\,(+\,\{CO_2\} + \{H_2O\}) \xrightarrow{k^{*}I} \{HCO_2\} + \{OH\} + X \cdot Chl \cdot HZ$

b) $\{OH\} + E \xrightarrow{k_e} EOH$

c) $EOH \xrightarrow{k_e'} E\,(+\,O_2)$

d) $\{OH\} + X \cdot Chl \cdot HZ\,(+\,H_2M) \xrightarrow{k_n} X \cdot Chl \cdot HZ \cdot HM + H_2O = \{Chl\} + H_2O$

e) $X \cdot Chl \cdot HZ \cdot HM\,(+\,{}^1/_4\,O_2) \xrightarrow{k_n'} X \cdot Chl \cdot HZ\,(+\,M + {}^1/_2 H_2O)$

(s. Rabinowitch 1951, S. 1041).

$\overline{X} \cdot Chl \cdot HZ$ = lichtempfindlicher Chlorophyllkomplex.
{Chl} = Abkürzungsausdruck für das „narkotisierte Chlorophyll" $X \cdot Chl \cdot HZ \cdot HM$.
E = Enzymkomplex.
k = Geschwindigkeitskonstante
I = Lichtintensität.
Die Verbindungen in Klammer () werden im Überschuß angenommen.

Man muß annehmen, daß die (manometrisch gemessene) O_2-Aufnahme bei hoher Lichtintensität zu einer weiteren Oxydierung des halboxydierten „Narkotikums" verwendet wird und letztlich auch zu einer vollständigen Oxydation der Farbstoffe; denn unter O_2-Abschluß findet auch bei stärkster Lichteinstrahlung keine Ausbleichung der Farbstoffe statt (Pringsheim 1881 und 1882, Funk 1939 und 1940, Kandler u. Schötz 1956).

Da erst dann, wenn die Menge des photooxydativ aufgenommenen O_2 geringer wird, nach den Beobachtungen von Myers u. Burr Anzeichen einer Zerstörung der Farbstoffe zu bemerken sind, werden die Pigmente vermutlich chemisch selbst solange unverändert bleiben, wie anderes, anscheinend leichter oxydierbares oder reduzierend wirkendes Material zur Verfügung steht. Dafür spricht, daß eine Lichtschädigung der Pflanze tatsächlich hinausgezögert werden kann, wenn von außen her solches Material zugeführt wird, z. B. wenn Blätter in Glucose-Lösung eintauchen (Franck u. French 1941) — die O_2-Aufnahme ist dann freilich höher und länger andauernd — oder wenn Blätter von anderen des gleichen Stammes, die normal assimilieren, mit Zuckern versorgt werden (Mevius 1936).

Wie stark die Farbstoffe einer Pflanze durch Licht ausbleichen, d. h. wie photolabil sie ist, könnte von einer genetisch festgelegten Menge und der Aktivität des Enzymkomplexes E abhängen (um das obige noch hypothetische Bild beizubehalten) oder von der verfügbaren Menge an oxydierbarer Substanz.

Vielleicht ist eine ins Extrem gesteigerte Photolabilität auch die Ursache für die Vergilbung und Ausbleichung von Blatteilen bei bestimmten Panaschierten, so etwa bei Bastardschecken (SCHÖTZ 1955, KANDLER u. SCHÖTZ 1956) oder bei den Plastidenmutanten mit ihren noch stärker lichtempfindlichen Chloroplasten, die überhaupt nicht mehr assimilieren können (vollständig „narkotisiertes" Chlorophyll?).

Die Chlorose-Erscheinungen bei Stickstoffmangel können hier ebenfalls mit angeführt werden, weil bei ihnen ein Pigment-Verhältnis beobachtet wurde (AACH 1953, SAGROMSKY 1956) wie bei unseren starklichtveränderten Pflanzen. Der in diesem Falle verminderte Eiweißspiegel verringert wahrscheinlich die Fermentmengen (auch E) und ruft schon bei mäßiger Lichtintensität Anhäufung von {OH} und Oxydation der Farbstoffe hervor. AACH 1954 hat die Veränderung der Farbstoffe auf eine direkte abbauende Wirkung des Lichtes auf die Farbstoffmoleküle zurückgeführt, sobald Mangel an einem sog. Trägerferment oder -eiweiß eintritt, welches sonst die aufgenommene Energie wegschafft.

Wir können vermuten, daß die sog. „hyperphotischen" Ausbleichungen, also die durch Starklicht bedingten quantitativen und qualitativen Pigment-Veränderungen, die Folge einer Oxydation durch „Photoperoxyde" sind, welche durch das katalytische Wirken der lichtangeregten Farbstoffe selbst gebildet werden.

Wie die Versuche bewiesen haben, müssen die photooxydativen Wirkungen auf den Blattfarbstoffgehalt in der freien Natur eine bedeutende Rolle spielen. Man kann sie auch jederzeit leicht sichtbar machen, wenn man bei Strahlungswetter Blatteile, besonders von photolabilen Pflanzen, einige Tage mit Silberpapier abdeckt. Diese Teile erscheinen dann tief-grün gegenüber den mehr gelblich aussehenden, bestrahlten (s. auch MONTFORT 1953 und MONTFORT u. KRESS-RICHTER 1950).

Bei *Veratrum* ist im Spätsommer ferner gut zu beobachten, daß die der Sonne ausgesetzten Blattstreifen schließlich vollkommen vergilben und früher absterben als die mehr beschatteten oder abgedunkelten Blatteile. Wir lernen hier neben der hypophotischen Ausbleichung eine zweite Möglichkeit einer beschleunigten herbstlichen Vergilbung kennen: die durch Starklicht.

4. Die Quotientenverschiebung der Blattfarbstoffe

Bei den *Farblichtversuchen* tritt eine Quotientenverschiebung der Blattfarbstoffe nur dann ein, wenn der Pigmentgehalt sehr gering und die Photosynthese sehr langsam wird.

Wie die Abb. 3 klar macht, läßt sich im grünen Spektralbereich eine solche Mengenverschiebung zwischen den gelben und grünen Farbstoffen feststellen. Man kann — grob gesehen — sagen, daß die Chlorophylle verglichen mit ihrer Menge im Weißlicht um etwa 65% abnehmen, die Carotinoide dagegen nur um 55%.

Die Erklärung dafür kann einmal in einer oben schon als nicht sehr wahrscheinlich bezeichneten Umwandlungshemmung von Protochlorophyll in Chlorophyll gesucht werden, zum andern aber in der *verschieden großen Synthesegeschwindigkeit der gelben und grünen Farbstoffe*. Roux u. Husson (1952) konnten, wie schon angeführt, nachweisen, daß vom aufgenommenen radioaktiven CO_2 nach 20 min 0,6% im Chlorophyll a, 0,1% im Chlorophyll b und 5% in den Carotinoiden wiederzufinden war.

Das würde bedeuten, daß bei der Carotinoid-Synthese rund 7mal mehr freies CO_2 verarbeitet worden ist als bei der Chlorophyll-Synthese (im schon voll ausgebildeten, farbstoffhaltigen Blatt!). Wenn wir auch nicht wissen, wie viele der C-Atome im Chlorophyll- oder Carotinoid-Molekül bei der Bildung aus dem photosynthetisch aufgenommenen CO_2 stammen und deshalb nicht ohne weiteres auf die in der Zeiteinheit gebildeten Farbstoffmengen schließen können, so deuten diese Werte doch auf eine schnellere Umsetzung und damit auf einen schnelleren Aufbau der Carotinoide hin. Dies ist um so wahrscheinlicher, als normalerweise die Carotinoide in der Pflanze mengenmäßig nur den 3.–4. Teil der Chlorophylle ausmachen (Willstätter 1913), also in der Zeiteinheit zu einem noch größeren Prozentsatz einer Umwandlung unterliegen dürften, als es die Radioaktivität angibt.

Eine größere Geschwindigkeit der Stoffsynthese aus freiem CO_2 muß sich aber in dem Augenblick bemerkbar machen, in dem die durch Photolyse des H_2O gewonnene Energie nicht mehr ausreicht, alle Syntheseprodukte in normaler Menge zu bilden, und die Energie gleichsam schon vorher bei der Bildung von Vorstufen oder anderen Zellbestandteilen verbraucht wird. In solch einem Stadium könnten möglicherweise die Carotinoide in noch größerem Maße gebildet werden als die Chlorophylle mit ihrem längeren, komplizierteren und mehr Energie benötigenden Syntheseweg.

Dieser Zustand wäre in den „Grünlicht"-Pflanzen denkbar. Die Verschiebung des Komponentenverhältnisses Chlorophylle:Carotinoide wird also lediglich durch die (zu geringe) Lichtintensität bewirkt und ist zweifellos unabhängig von der Farbqualität.

Dieselbe Unabhängigkeit von der eingestrahlten Wellenlänge haben wir schon bei der — freilich anders bedingten und gearteten — Komponentenverschiebung bei *Starklichteinwirkung* kennengelernt. Die Vermehrung oxydierter Carotinoide (Xanthophylle) auf Kosten der Carotine

wurde eingehend besprochen. Zu erwähnen ist noch die etwas stärkere Lichtempfindlichkeit von Chlorophyll a gegenüber Chlorophyll b. AACH 1953 findet eine solche lichtbedingte Komponentenverschiebung bei Stickstoffmangelkulturen von *Chlorella*.

Es bleibt uns noch die Besprechung der Komponentenverschiebung bei *tiefen Tages-Temperaturen*. Wir haben die Abnahme der Farbstoffe zum großen Teil auf einen Mangel an Vorstufen zurückgeführt. Wir müßten demnach ähnliche Komponenten-Verhältnisse bekommen wie bei einer verringerten Photosynthese, welche durch zu wenig Licht, etwa durch das Grünlicht bei unseren Farbversuchen, verursacht wird.

Jedoch ist bei den 5°-Pflanzen im Vergleich zu den 15°- und sogar 25°-Pflanzen ein Ansteigen der Xanthophyllwerte zu beobachten (ganz im Gegensatz zu den Carotinen; s. Tabelle 2), so daß man noch auf einen anderen Einfluß, nämlich auf den der Photooxydation schließen muß. Es ist anzunehmen, daß bei einer Temperatur in der Nähe des Nullpunktes die Ferment-Aktivität (dabei auch k_c) soviel geringer wird, daß bereits bei mäßiger Beleuchtung Oxydation der Farbstoffe eintritt.

Das würde aber bedeuten, daß die Photolabilität einer Pflanze bei tiefen Temperaturen zunimmt (vgl. das starke Vergilben oder Ausbleichen lichtzugewendeter Coniferen-Nadeln oder Moose im Winter).

Um es abschließend noch einmal *zusammenzufassen*: Der Farbstoffgehalt und das Komponenten-Verhältnis wird maßgeblich durch zwei Vorgänge bestimmt, durch die Photosynthese, welche die Pigmentbildung energetisch und durch Bereitstellung der Vorstufen fördert, und durch die photooxydativen Einflüsse, die eine Vermehrung der oxydierten Carotinoide, dagegen eine Verminderung der übrigen Farbstoffe bewirken.

Je nach Temperatur, CO_2-Versorgung und der Menge des absorbierten Lichtes kann die Höhe des Farbstoffgehaltes um eine genetisch festgelegte „normale" Menge schwanken, und die Komponentenverhältnisse können sich verschieben.

Die Untersuchungen wurden von 1953—1955 im Botanischen Institut der Universität München mit Unterstützung der Gesellschaft für Ernährungsbiologie durchgeführt. Für die Überlassung des Themas und die immerwährende Förderung und Hilfe möchte ich Herrn Prof. Dr. F. BUKATSCH herzlich danken.

Den Herren Direktoren des Botanischen Instituts Prof. Dr. O. RENNER, Prof. Dr. K. MÄGDEFRAU und Prof. Dr. L. BRAUNER danke ich für ihr freundliches Entgegenkommen bei der Bereitstellung der Versuchseinrichtungen.

Zusammenfassung

1. Klimatisch bedingte Mengenveränderungen der Chloroplastenfarbstoffe lassen sich schon an einem einzigen Blatt von *Veratrum album* nachweisen.

2. Die *Tagestemperaturen* beeinflussen die Höhe des Pigmentspiegels: Bei Temperaturerniedrigung ($25^0 \rightarrow 15^0 \rightarrow 5^0$ C) nehmen Chlorophyll a, Chlorophyll b und Carotin stark, das Xanthophyll dagegen schwächer ab. Bei Bezug auf das Frischgewicht erscheint der Xanthophyllgehalt sogar vermehrt.

Als Ursache wird einmal eine Geschwindigkeitsverminderung bei der Synthese der Pigmentvorstufen durch die verringerte Assimilationsleistung angenommen; andererseits weist der erhöhte Xanthophyllgehalt bei niederen Temperaturen (5° C) auf photooxydative Einflüsse hin.

Die Photolabilität des gesamten Pigmentsystems nimmt daher bei tiefen Temperaturen zu.

3. Veränderungen der *Nachttemperatur* (25^0, 15^0, 5^0) beeinflussen bei konstanter Tagestemperatur (18^0) die Höhe des auf das Trockengewicht bezogenen Pigmentspiegels fast nicht.

Bezogen auf das Frischgewicht erscheint der Farbstoffgehalt dagegen bei hohen Nachttemperaturen (25° C) infolge des hier größeren Wassergehaltes des Gewebes erniedrigt.

4. Der flächen- und frischgewichtsbezogene Farbstoffgehalt in grünen Pflanzen ist — unter sonst normalen Bedingungen — am größten bei hohen Tages- und tiefen Nachttemperaturen.

5. In energiegleichem Rot-, Gelb-, Grün-, Blau- und UV-Licht läßt sich eine chromatische Adaptation der einzelnen Blattpigment-Komponenten nicht feststellen: Das Verhältnis der grünen zu den gelben Farbstoffen bleibt in rotem Licht dasselbe wie in blauem Licht.

Im grünen Spektralbereich ist, entsprechend dem Verlauf des Absorptions- und Aktionsspektrums der Photosynthese, der Gehalt an Chlorophyllen und Carotinoiden am geringsten. Eine leichte Komponentenverschiebung in diesem schwach wirkenden Licht wird diskutiert.

Die Höhe des normalen, photooxydativ nicht veränderten Farbstoffspiegels ist unabhängig von der Wellenlänge, aber abhängig von der Anzahl der eingestrahlten und *absorbierten* Lichtquanten.

6. Bei *Starklichteinwirkung* (50000 Lux oder Sonne; bei photolabilen Pflanzen auch schon bei geringerer Lichtintensität) nehmen Chlorophyll a, Chlorophyll b und Carotin beträchtlich ab; die Menge der Xanthophylle dagegen nimmt entweder absolut (bei Bezug auf das Frischgewicht) oder relativ (bei Bezug auf das Trockengewicht) zu.

Die Mengenveränderungen und damit auch die Komponentenverschiebungen zwischen Chlorophyllen und Carotinoiden gehen mit qualitativen Veränderungen der gelben Farbstoffe einher. Es treten, neben den bei Schwachlicht vorhandenen Hauptxanthophyllen Lutein, Violaxanthin und Neoxanthin sowie dem β-Carotin, Oxydationsstufen oder energiereichere cis-Verbindungen der Carotinoide zusätzlich oder in

verstärktem Maße auf: Zeaxanthin, Xanthophyllepoxyd, Chrysanthemaxanthin, Flavoxanthin, ferner die (gelben) Farbstoffe X_1, X_2, X_3, X_0 und c_1 bis c_{14} (s. HAGER 1957).

Für diese photooxydativen Erscheinungen ist nur die Menge und nicht die Art des absorbierten Lichtes ausschlaggebend; die Effekte treten auch in starkem Rotlicht auf. Sie könnten auf die Wirkung angehäufter, oxydierten Verbindungen („Photoperoxyde") zurückgeführt werden, welche das Chlorophyll zunächst „narkotisieren", d. h. photosynthetisch inaktivieren und dann die Farbstoffe oxydativ angreifen.

Genetisch bedingte Unterschiede in der Abbaugeschwindigkeit dieser „Photoperoxyde" zu freiem Sauerstoff ließen sich andererseits als Ursache für die verschieden hohe Photostabilität der Pflanzen annehmen. Die Geschwindigkeit des Abbaues würde dabei durch die Menge und Aktivität der beteiligten Enzyme geregelt sein.

Durch Starklichteinwirkung wird die Pro-Vitamin A-Wirksamkeit der Pflanzencarotinoide vermindert.

7. Der Farbstoffgehalt grüner Blätter ergibt sich aus einem Gleichgewichtszustand zwischen Auf- und Abbau, der maßgeblich durch die Photosyntheseleistung gesteuert wird, aber auch dem Einfluß von (Photo-) Oxydationen unterliegt.

Literatur

AACH, H. G.: Über Abbau und Regeneration der Chloroplasten-Farbstoffe bei Chlorella. Arch. Mikrobiol. **19**, 166 (1953). — Über einige Ähnlichkeiten der Lichtwirkung auf grüne Pflanzen und auf das tierische Auge. Z. Naturforsch. **9b**, 481 (1954). — ARNON, D. J.: The chloroplast as a complete photosynthetic unit. Cell-Symposion, Berkeley 1954. — BANDURSKI, R. S.: Synthesis of carotenoid pigments in detached bean leaves. Bot. Gaz. **111**, 95 (1949). — BANDURSKI, R. S., F. M. SCOTT, M. PFLUG and F. W. WENT: The effect of temperature on the color and anatomy of tomato leaves. Amer. J. Bot. **40**, 41 (1953). — BEEKMANN, H.: Über den Umsatz von Carotinoiden in höheren Pflanzen. Naturwiss. **40**, 486 (1953). — Untersuchungen über den Umsatz von Carotinoiden in höheren Pflanzen. Z. Bot. **42**, 387 (1954). — BLAAUW-JANSEN, G., J. G. KOMEN and J. B. THOMAS: On the relation between the formation of assimilatory pigments and the rate of photosynthesis in etiolated oat seedlings. Biochim. et Biophysica Acta **5**, 179 (1950). — BOGORAD, L., and S. GRANICK: Protoporphyrin precursors produced by a Chlorella mutant. J. of Biol. Chem. **202**, 793 (1953). — BONNER, J., R. S. BANDURSKI u. A. MILLERD: Linkage of respiration to auxin-induced water uptake. Physiol. Plantarum (Copenh.) **6**, 511 (1953). — BORESCH, K.: Über die Einwirkung farbigen Lichtes auf die Färbung von Cyanophyceen. Ber. dtsch. bot. Ges. **37**, 24 (1919). — BUKATSCH, F.: Über den Einfluß verschiedener mineralischer Ernährung auf den Blattpigmentgehalt. II. Phyton (Horn, N.-Oe.) **3**, 173 (1951).— BUKATSCH, F., H. HAUBOLD u. F. LACKNER: Carotinoidmangel als ein ätiologischer Faktor der neuen Kropfwelle in Deutschland. Klin. Wschr. **1951**, 450. — BURNS, G. R.: Photosynthesis and the absorption spectra of plant pigments. I. u. II. Amer. J. Bot. **24**, 257 (1937); **25**, 166 (1938). — Photosynthesis and absorption in blue radiation. Amer. J. Bot. **29**, 381 (1942). — CLAUSS, H.: Der Blattfarbstoff-

gehalt in verschiedenen Licht-Dunkel-Rhythmen gezogener Keimpflanzen. Z. Bot. **42**, 215 (1954). — Della Rosa, R. M., K. J. Altman and K. Salomon: The biosynthesis of chlorophyll as studied with labeled glycine and acetic acid. J. of Biol. Chem. **202**, 771 (1953). — Egle, K.: Zur Kenntnis des Lichtfeldes und der Blattfarbstoffe. Planta (Berl.) **26**, 546 (1937). — Untersuchungen über die Resistenz der Plastidenfarbstoffe. Bot. Archiv **45**, 93 (1944). — Die Biosynthese der Chlorophyllfarbstoffe. Naturwiss. **40**, 569 (1953). — Über den physikalisch-chemischen Verteilungszustand des Chlorophylls in lebenden Plastiden. Ber. dtsch. bot. Ges. **66**, 180 (1953). — Ehrke, G.: Über die Assimilation komplementär gefärbter Meeresalgen im Licht von verschiedenen Wellenlängen. Planta (Berl.) **17**, 650 (1932). — Emerson, R.: Photosynthesis as a function of light intensity and temperature with different concentration of chlorophyll. J. Gen. Physiol. **12**, 609 (1929). — Emerson, R., L. Green and J. L. Webb: Relation between quantity of chlorophyll and capacity for photosynthesis. Plant Physiol. **15**, 311 (1938). — Emerson, R., and C. Lewis: The dependence of the quantum yield of Chlorella photosynthesis on wave length of light. Amer. J. Bot. **30**, 165 (1943). — Engelmann, Th. W.: Farbe und Assimilation. Bot. Ztg **41**, 18 (1883). — Untersuchung über die quantitativen Beziehungen zwischen Absorption des Lichtes und Assimilation in Pflanzenzellen. Bot. Ztg **42**, 81, 97 (1884). — Eny, D. M.: Colorless polyenes in green leaves and latex. Arch. of Biochem. a. Biophysics **46**, 18 (1953). — Föckler, H.: Über den Einfluß des Lichtes auf die Atmung farbloser und assimilierender Gewebe und seine Rolle beim „funktionellen Sonnenstich". Jb. wiss. Bot. **87**, 45 (1939). — Franck, J.: The relation of fluorescence in plants to photosynthesis. In: Photosynthesis in Plants, S. 293. Ames, Jowa: Jowa State College Press 1949. — Franck, J., and C. S. French: Photooxidation processes in plants. J. Gen. Physiol. **25**, 309 (1941). Franck, J., S. C. French and T. T. Puck: J. Physic. Chem. **45**, 1268 (1941). — Franck, J., and K. F. Herzfeld: Contribution to a theory of photosynthesis. J. Physic. Chem. **45**, 978 (1941). — Franck, J., and Y. G. Shiau: Chlorophyll fluorescence and photosynthesis in algae, leaves and chloroplasts. Arch. of Biochem. **14**, 253 (1947). — Frank, S.: The relation between carotenoid and chlorophyll pigments in Avena coleoptiles. Arch. of Biochem. **30**, 52 (1951). — Franke, W.: Über das Lichtfeld in künstlich beleuchteten Thermostaten. Ber. dtsch. bot. Ges. **67**, 48 (1954). — Funk, G.: Weitere Lichtbleichungsversuche mit getrockneten Laubblättern. Ber. dtsch. bot. Ges. **57**, 404 (1939). — Zur Ätiologie der Lichtbleichung des Chlorophylls im getrockneten Laubblatt. Ber. dtsch. bot. Ges. **58**, 516 (1940). — Gaidukov, J. N.: Die komplementäre chromatische Adaptation bei Porphyra und Phormidium. Ber. dtsch. bot. Ges. **24**, 1 (1906). — Gassner, G., u. G. Götze: Assimilationsverhalten, Chlorophyllgehalt und Transpirationsgröße von Getreideblättern. Z. Bot. **27**, 257 (1934). — Geiger, R.: Das Klima der bodennahen Luftschicht, 93. Aufl. Braunschweig 1950. — Goodwin, T. W.: Fungal carotinoids. Bot. Rev. **18**, 291 (1952). — Studies in carotenogenesis. XIII. Biochemic. J. **58**, 90 (1954). — Carotenoids. Annual Rev. Biochem. **24**, 497 (1955). — Goodwin, T. W., and Jamikorn: Biosynthesis of carotenes in ripening tomatoes. Nature (Lond.) **170**, 104 (1952). — Granick, S.: Biosynthesis of chlorophyll and related pigments. Annual Rev. Plant Physiol. **2**, 115 (1951). — Hager, A.: Chloroplastenfarbstoffe, ihre papierchromatographische Trennung und ihre Veränderungen durch Außenfaktoren. Z. Naturforsch. **10b**, 310 (1955). — Zur Chromatographie der lipoidlöslichen Blattfarbstoffe. Planta (Berl.) **48**, 592 (1957). — Harder, R.: Über die Bedeutung von Lichtintensität und Wellenlänge für die Assimilation farbiger Algen. Z. Bot. **15**, 305 (1923). — Über die Assimilation der Kohlensäure bei konstanten Außenbedingungen. I. u. II. Planta (Berl.) **11**, 263 (1930); **20**, 699 (1933). — Harder, R., W. Simonis u. O. Bode: Die Wirkung der Lichtqualität und Lichtquantität auf die Chloroplastenfarbstoffe bei Helodea

canadensis. Nachr. Ges. Wiss. Göttingen, Kl. VI **3**, 135 (1938). — HEUER, E.: Einfluß von Düngung, Jahreszeit und Standort auf den Pigmentgehalt von Wiesen- und Futterpflanzen. Jahresbericht herausgeg. v. d. Ges. für Ernährungsbiologie, München 1952. — HOOVER, W. H.: Smithsonian Misc. Coll. **95**, No 21 (1937). — KANDLER, O., u. F. SCHÖTZ: Untersuchungen über die photooxydative Farbstoffzerstörung und Stoffwechselhemmung bei Chlorellamutanten und panaschierten Oenotheren. Z. Naturforsch. **11b**, 708 (1956). — KAR, B. K.: Über das Verhalten der Plastidenfarbstoffe photoperiodisch reagierender Pflanzen bei verschiedenem Lichtgenuß. Planta (Berl.) **26**, 42 (1937). — KARRER, P., u. E. JUCKER: Carotinoide. Basel 1948. — KENDA, G., J. THALER u. F. WEBER: Schließzellen-Chloroplasten vergilben nicht. Protoplasma (Wien) **42**, 247 (1953). — KOLB, E.: Untersuchungen über die jahreszeitlichen Schwankungen des Carotin- und Vitamin-A-Gehaltes der Milchfette und ihre Beeinflussung durch die Fütterung. Jahresbericht herausgegeben v. d. Ges. für Ernährungsbiologie, München 1952. — KOSKI, V. M., C. S. FRENCH and J. H. C. SMITH: The action spectrum for the transformation of protochlorophyll to chlorophyll a in normal and albino corn seedlings. Arch. of Biochem. a. Biophysics **31**, 1 (1951). — LÄRZ, H.: Beiträge zur Pathologie der Chloroplasten. Flora (Jena) **135**, 319 (1942). — LUBIMENKO, V. N., and E. R. HUBBENET: The influence of temperature on the rate of accumulation of chlorophyll in etiolated seedlings. New Phytologist **31**, 26 (1932). — MCALISTER, E. D., and J. MYERS: The time course of photosynthesis and fluorescence observed simultaneously. Smithsonian Misc. Coll. **99**, 1 (1940). — MEVIUS, W.: Über das Verhalten belichteter Laubblätter in kohlensäurefreier Luft. Jb. wiss. Bot. **81**, 327 (1935). — MICHAEL, M.: Untersuchungen über die photosynthetische Leistung gelbblättriger Gehölze. Flora (Jena) **141**, 389 (1954). — MONTFORT, C.: Untersuchungen zur Theorie der komplementären Farbanpassung nordischer Meeresalgen. Jb. wiss. Bot. **79**, 493 (1934). — Lichttod und Starklichtresistenz bei Assimilationsgeweben. Jb. wiss. Bot. **84**, 1, 483 (1936). — Sonnen- und Schattenpflanzen als biochemische und physiologische Reaktionstypen. Natur u. Volk **78**, 86 (1948). — Photochemische Wirkungen des Höhenklimas auf die Chloroplasten photolabiler Pflanzen im Mittel- und Hochgebirge. Z. Naturforsch. **5b**, 221 (1950). — Photochemische Wirkungen der langwelligen Hälfte des Sonnenspektrums auf Chlorophyllspiegel und Lebenszustand photolabiler Assimilationsgewebe. Ber. dtsch. bot. Ges. **66**, 183 (1953). — MONTFORT, C., J. FELGNER u. L. MÜLLER: Differenzfilterversuche über die wirksamen Strahlenbereiche bei der Chlorophyllzerstörung durch Sonnenlicht. Z. Bot. **40**, 173 (1952). — MONTFORT, C., u. J. KRESS-RICHTER: Reversible photochemische Chlorophyll-Zerstörungen in besonnten Laubblättern von Aurea-Formen und ihre Beziehung zu Strahlungsklima und Erbgut. Planta (Berl.) **38**, 516 (1950). — MONTFORT, C., u. G. ZÖLLNER: Beständigkeit und Zerstörung des Chlorophylls im Blatt. Bot. Archiv **43**, 393 (1942). — MOSTER, J. B., and F. W. QUACKENBUSH: The effect of temperature and light on the carotenoids of seedlings grown from three corn hybrids. Arch. of Biochem. a. Biophysics **38**, 297 (1952). — MOSTER, J. G., F. W. QUACKENBUSH and J. W. PORTER: The carotenoids of corn seedlings. Arch. of Biochem. a. Biophysics **38**, 287 (1952). — MUNDING, H.: Untersuchungen zur Frage der Strahlenresistenz des Chlorophylls in den Chloroplasten. Protoplasma (Wien) **41**, 212 (1952). — MULLIKEN, R. S.: Rev. Mod. Physics **14**, 265 (1942). — MYERS, J., and G. O. BURR: Studies of photosynthesis. Some effects of light of high intensity on Chlorella. J. Gen. Physiol. **24**, 45 (1940). — NAGEL, W.: Über die Blattpigmente des Tabaks. Bot. Archiv **40**, 1 (1940). — NOACK, K.: Photochemische Wirkungen des Chlorophylls. Naturwiss. **14**, 383 (1926). — OLTMANNS, F.: Morphologie und Biologie der Algen, 2. Aufl. Jena 1923. — ORTH, R.: Strahlung, Lichtfeld und Pflanze (Sammelreferat). Bioklimat.Beibl. **5**, 68 (1938). — PIRSCHLE, K.: Weitere Beobachtungen über den Einfluß von langwelligen und mittel-

welligen UV-Strahlen auf höhere Pflanzen. Biol. Zbl. **61**, 452 (1941). — PORTER, J. W., and R. E. LINCOLN: II. The mechanism of carotene biosynthesis. Arch. of Biochem. **27**, 390 (1950). — PRINGSHEIM, N.: Untersuchungen über die Lichtwirkung und Chlorophyllfunktion in der Pflanze. Leipzig: Wilhelm Engelmann 1881. — Über Chlorophyllfunktion und Lichtwirkung in der Pflanze. Jb. wiss. Bot. **13**, 377 (1882). — RABINOWITCH, E. M.: Photosynthesis and related processes. Bd. I, Bd. II. New York 1945, 1951. — RICHTER, A. v.: Farbe und Assimilation. Ber. dtsch. bot. Ges. **30**, 280 (1912). — ROUX, E.: Sur le comportement possible de la chlorophylle dans la photosynthèse. C. r. Acad. Sci. Paris **232**, 1865 (1951). — ROUX, E., et CH. HUSSON: Pigments des chloroplastes et photosynthèse. C. r. Acad. Sci. Paris **235**, 1154 (1952). — RUDOLPH, H.: Über die Einwirkung des farbigen Lichtes auf die Entstehung des Chloroplasten-Farbstoffes. Planta (Berl.) **21**, 104 (1934). — RUGE, U.: Anzucht von Pflanzen bei ausschließlich künstlicher Beleuchtung. Z. Bot. **42**, 31 (1954). — SAGROMSKY, H.: Einfluß von Lichtintensität und Tageslänge auf Wachstum und Pigmentbildung verschiedener Tomatenmutanten. Kulturpflanze **2**, 155 (1954). — Chlorophyllbildung bei Aureaformen. I. u. II. Z. Naturforsch. **11b**, 548, 554 (1956). — SARGENT, M. C.: Causes of color change in blue-green algae. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. **20**, 251 (1934). — SAYRE, J. C.: The development of chlorophyll in seedlings in different ranges of wave lengths of light. Plant Physiol. **3**, 71 (1928). — SCHANZ, F.: Wirkungen des Lichtes verschiedener Wellenlänge auf die Pflanzen. Ber. dtsch. bot. Ges. **17**, 430 (1919). — SCHMIDT, H. H.: Studien zur experimentellen Pathologie der Chloroplasten. Protoplasma (Wien) **40**, 209 (1951). — SCHÖTZ, F.: Untersuchungen an panaschierten Oenotheren. I. Z. Naturforsch. **10b**, 100 (1955). — SEYBOLD, A.: Über den Lichtgenuß der Sonnen- und Schattenpflanzen. Ber. dtsch. bot. Ges. **52**, 493 (1934). — Über den Lichtfaktor photophysiologischer Prozesse. Jb. wiss. Bot. **82**, 741 (1936). — Zur Kenntnis der herbstlichen Laubblattfärbung. Bot. Archiv **44**, 551 (1943). — SEYBOLD, A., u. K. EGLE: Lichtfeld und Blattfarbstoffe. I. Planta (Berl.) **26**, 491 (1937). — Lichtfeld und Blattfarbstoffe. II. Planta (Berl.) **28**, 87 (1938). — SEYBOLD, A., u. A. WEISSWEILER: Spektrophotometrische Messungen an grünen Pflanzen und an Chlorophyll-Lösungen. Bot. Archiv **43**, 252 (1942a). — Weitere spektrophotometrische Messungen an Laubblättern und an Chlorophyll-Lösungen. Bot. Archiv **44**, 102 (1942b). — Zur Klärung einiger elementarer optischer Fragen der Photophysiologie. Bot. Archiv **44**, 456 (1943). — SIEDEL, W.: Die Biosynthese des Chlorophylls. Angew. Chem. **66**, 735 (1954). — SIMONIS, W.: Der Einfluß verschiedenfarbigen Anzuchtlichtes auf die CO_2-Assimilation und den Farbstoffgehalt von Helodea canadensis. Planta (Berl.) **29**, 192 (1939). — SIRONVAL, C.: A propos du métabolisme de la chlorophylle dans la feuille. Bull. Soc. roy. bot. Belg. **85**, 285 (1953). — SMITH, J. H. D.: Protochlorophyll, precursor of chlorophyll. Arch. of Biochem. **19**, 449 (1948). — STAHL, E.: Über den Einfluß des sonnigen oder schattigen Standortes auf die Ausbildung der Laubblätter. Jena. Z. Naturwiss. **16**, 162 (1883). — Zur Biologie des Chlorophylls. Jena 1909. — STÅLFELT, M. G.: Licht- und Temperaturhemmung in der Kohlensäure-Assimilation. Planta (Berl.) **30**, 384 (1939). — STEEMANN-NIELSEN, E.: A reversible inactivation of chlorophyll in vivo. Physiol. Plantarum (Copenh.) **2**, 247 (1949). — STROTT, A.: Der Einfluß der Umweltbedingungen auf die Ausbildung der Chloroplastenfarbstoffe. Jb. wiss. Bot. **86**, 1 (1938). — VERMEULEN, D., E. C. WASSINK u. G. H. REMAN: On the fluorescence of photosynthesizing cells. Enzymologia **4**, 254 (1937). — WARBURG, O.: Über die Geschwindigkeit der photochemischen Kohlensäurezersetzung in lebenden Zellen. Biochem. Z. **103**, 188 (1920). — WARBURG, O., u. G. KRIPPAHL: Über die funktionelle Kohlensäure der Chlorella. Z. Naturforsch. **11b**, 718 (1956). — WASSINK, E. C.: On plants grown exclusively in light of restricted spectral regions. Huitième Congr. Internat. de Bot. Paris 1954,

Sect. 11 u. 12, S. 316, 1954. — Wassink, E. C., D. Vermeulen, G. H. Reman and E. Katz: On the relation between fluorescence and assimilation in photosynthesizing cells. Enzymologia **5**, 100 (1938). — Wiesner, J.: Der Lichtgenuß der Pflanzen. Leipzig 1907. — Willstätter, R., u. A. Stoll: Untersuchungen über das Chlorophyll. Berlin 1913. — Untersuchungen über die Assimilation der Kohlensäure. Berlin 1918. — Withrow, R.: Filters for the isolation of narrow regions in the visible and near-visible spectrum. Plant Physiol. **28**, 105 (1953). — Zahn, R.: Lichtökologische Untersuchungen der Chloroplasten-Farbstoffe photostabiler und photolabiler Pflanzen. Diss. Frankfurt 1952. — Zechmeister, L.: Chem. Rev. **34**, 267 (1944). — Chem. Rev. **34**, 293 (1944). — Zechmeisier, L., H. J. Deuel jr., C. Johnston, E. R. Meserve and A. Polgar: Stereochemical configuration and provitamin A activity. IV. Neo-α-carotene B and neo-β-carotene B. Arch. of Biochem. **7**, 247 (1945).

Dr. Achim Hager, Botanisches Institut der Universität München 19, Menzinger Str. 67

Aufnahmebedingungen

Die Arbeit muß dem Gebiet der Zeitschrift angehören und wissenschaftlich Neues bringen. Arbeiten, die ausschließlich praktischen Zwecken dienen, scheiden aus.

Bei Arbeiten aus Instituten ist eine Erklärung des Direktors oder eines Abteilungsleiters beizufügen, daß er mit der Publikation der Arbeit aus dem Institut bzw. der Abteilung einverstanden ist und den Verfasser auf die Aufnahmebedingungen aufmerksam gemacht hat.

Das Manuskript muß leicht leserlich geschrieben und völlig druckfertig sein; andernfalls sind Verzögerungen im Erscheinen unvermeidlich. Korrekturen im Satz müssen auf das sachlich Notwendige beschränkt werden.

Für die Rechtschreibung ist die „Wissenschaftliche Rechtschreibung nach JANSEN" maßgebend, mit der die Schreibung der Termini im „Handwörterbuch der Naturwissenschaften" (Jena 1931—1934) im wesentlichen übereinstimmt. Wenn nötig, wird die Angleichung durch die Herausgeber bzw. durch die Druckerei vorgenommen.

Die Darstellung soll möglichst kurz sein. Ergebnisse dürfen nicht gleichzeitig in Tabellen- und Kurvenform dargestellt werden.

Die Abbildungen sind auf das Notwendigste zu beschränken, insbesondere die Reproduktion von Photographien. Einzelfiguren einer Abbildung sind, falls es sich um Vorlagen für Strichätzungen handelt, wenn möglich so zusammenzustellen, daß sie in *einem* Klischee bei gleicher Verkleinerung reproduziert werden können. Buchstaben u. a. sind mit Bleistift beizufügen.

Die Texte zu den Abbildungen sind auf eigenem Blatt gesammelt beizugeben.

Bei einleitenden Literaturbesprechungen soll möglichst auf zusammenfassende Darstellungen verwiesen und nur das zum unmittelbaren Verständnis Notwendige gebracht werden.

Der Arbeit ist eine Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse (höchstens 1 Seite) anzufügen, die in Deutsch oder Englisch oder Französisch abgefaßt sein kann.

Zu den Literaturverzeichnissen: Bei Zeitschriftenartikeln sollen der Titel sowie erste und letzte Seite angegeben werden. In den Titeln von Büchern aller Sprachen sollen, zur Kennzeichnung gegenüber Artikeln in Zeitschriften, Substantiva wie Adjektiva groß, dagegen in den Abkürzungen von Zeitschriftentiteln die Substantiva groß und die Adjektiva klein geschrieben werden (z. B. Cell Res., aber cell. Physiol.).

Ergebnisse der Mikrobiologie, Immunitätsforschung und experimentellen Therapie

Fortsetzung der Ergebnisse der Hygiene, Bakteriologie, Immunitätsforschung und experimentellen Therapie. Herausgegeben von **W. Kikuth**, Düsseldorf, **K. F. Meyer**, San Francisco, **E. G. Nauck**, Hamburg, **A. M. Pappenheimer** jr., New York, **J. Tomcsik**, Basel.

Dreißigster Band: Mit 63 Abbildungen. III, 343 Seiten Gr.-8°. 1957.
Steif geheftet DM 68.—

Inhaltsübersicht: **Multicellularity in Bacteria.** By K. A. Bisset, Birmingham/Great Britain. — **Bacterial Flagella and Motility.** By A. Pijper, Pretoria/South Africa. — **Die Anwendung von Phagen in der bakteriologischen Diagnostik mit besonderer Berücksichtigung der Typisierung von Typhus- und Parathyphus B-Bakterien sowie Staphylokokken.** Von H. Brandis, Frankfurt a. M./Deutschland. — **Das Kauffmann-White-Schema.** Von F. Kauffmann, Kopenhagen/Dänemark. — **Activités Bactériolytiques des Microorganismes.** Par M. Welsch, Liège/Belge. — **Die Bakteriencytologie im Vergleich zum Feinbau höher differenzierter Zellen.** Von H. Ruska, Albany (New York) USA. **Die serologische Diagnostik der Viruserkrankungen des Menschen.** Von W. Hennessen, Düsseldorf/Deutschland. — Namen- und Sachverzeichnis.

SPRINGER-VERLAG / BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

Verständliche Wissenschaft

Naturwissenschaftliche Abteilung. Herausgegeben von Professor Dr. **Karl v. Frisch,** München.

Baum und Wald

Von **Ludwig Jost,** weil. o. Professor an der Universität Heidelberg. Zweite, durchgesehene Auflage, besorgt von **Fritz Overbeck,** o. Professor an der Universität Kiel. 6.—11. Tausend. (Band 29.) Mit 71 Abbildungen. VIII, 148 Seiten Kl.-8°.
Ganzleinen DM 7.80

Der tropische Regenwald

Von Dr. **Erwin Bünning,** o. Professor der Botanik an der Universität Tübingen. 1.—6. Tausend. (Band 56.) Mit 116 Abbildungen. VIII, 118 Seiten Kl.-8°.
Ganzleinen DM 7.80

Die Wälder der Erde

Von Dr. phil. **Johannes Weck,** o. ö. Professor für Weltforstwirtschaft an der Universität Hamburg, Direktor des Institutes „Weltforstwirtschaft" der Bundesforschungsanstalt für Forst- und Holzwirtschaft in Reinbek. 1.—6. Tausend. (Band 67.) Mit 64 Abbildungen. VII, 152 Seiten Kl.-8°. Ganzleinen DM 7.80

Die Biologie der Blüte

Von Dr. **Fritz Knoll,** Professor der Botanik, Direktor des Botanischen Institutes und Gartens der Universität Wien i. R. 1.—6. Tausend. (Band 57.) Mit 79 Abbildungen. VIII, 164 Seiten Kl.-8°. Ganzleinen DM 7.80

Die Saftströme der Pflanzen

Von Dr. **Bruno Huber,** Professor für Anatomie, Physiologie und Pathologie der Pflanzen an der Universität München, Direktor des Forstbotanischen Institutes der Bayerischen Forschungsanstalt. 1.—6. Tausend. (Band 58.) Mit 75 Abbildungen. VIII, 126 Seiten Kl.-8°. Ganzleinen DM 7.80

Die Entstehung der Kulturpflanzen

Von Professor Dr. **Franz Schwanitz,** Staatsinstitut für angewandte Botanik, Hamburg. 1.—6. Tausend. (Band 63.) Mit 59 Abbildungen. VI, 151 Seiten Kl.-8°.
Ganzleinen DM 7.80

SPRINGER-VERLAG / BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

Springer-Verlag, Berlin · Göttingen · Heidelberg — Druck der Universitätsdruckerei H. Stürtz AG., Würzburg
Printed in Germany